

doi: 10.3969/j.issn.1674-1242.2026.04.022

化学发光免疫分析试剂批间差补偿模型的建立及不确定度评定

柏 金, 黄晓辉

(许昌医院 检验科, 河南许昌 461000)

【摘要】目的 化学发光免疫分析(chemiluminescence immunoassay, CLIA)试剂在更换批号时易出现检测结果的系统性偏移,影响生化检验项目的连续性与可比性。本研究旨在建立一种适用于临床实验室的试剂批间差补偿模型,并对补偿后结果进行测量不确定度评定,为基层医院检验科试剂批间切换提供可操作的质控方案。**方法** 选取许昌医院检验科在用 CLIA 平台开展研究,以肌酸激酶同工酶(creatine kinase-MB, CK-MB)、胱抑素 C(cystatin C, Cys-C)及降钙素原(procalcitonin, PCT)3 个生化相关免疫项目为研究对象,收集 3 个连续试剂批号(Lot A、Lot B、Lot C)的检测数据,每批号同步测定 31 例临床剩余血清样本及 2 个水平室内质控品。以 Lot A 为参比批号,采用 Deming 回归建立 Lot B、Lot C 对 Lot A 的补偿转移方程;从重复性、批内差、批间差、校准品赋值等分量合成测量不确定度,给出扩展不确定度 $U(k=2)$ 。**结果** 3 个项目中,未补偿前 Lot B、Lot C 相对 Lot A 的偏倚范围为 $-4.8\% \sim +8.2\%$,超出美国 1988 年临床实验室改进法案修正案(Clinical Laboratory Improvement Amendment '88, CLIA'88)允许总误差(total error allowable, TEa)的 $1/3$;经 Deming 回归补偿后,偏倚降至 $-1.3\% \sim +1.5\%$,均落入可接受区间。不确定度评定显示,补偿后 CK-MB(Lot B)、Cys-C(Lot B)、Cys-C(Lot C)、PCT(Lot C)的扩展不确定度分别为 4.3% 、 4.1% 、 5.2% 、 6.2% ($k=2$),主要贡献分量为校准品赋值不确定度与回归残差。所建补偿模型在后续 6 个月实际应用中,室间质量评价(external quality assessment, EQA)回报合格率由补偿前的 92.3% 提升至 100% 。**结论** 基于 Deming 回归的试剂批间差补偿模型可有效校正 CLIA 试剂批号更换带来的系统偏移,结合 ISO/TS 20914 框架的不确定度评定可量化补偿后结果的可靠性,适合在基层医院检验科推广。

【关键词】 化学发光免疫分析; 试剂批间差; 补偿模型; 测量不确定度; 生化检验

【中图分类号】 R197.6

【文献标志码】 A

文章编号: 1674-1242 (2026) 04-0107-05

Establishment and evaluation of uncertainty of batch-to-batch difference compensation model for chemiluminescence immunoassay reagents

BAI Jin, HUANG Xiaohui

(Department of Clinical Laboratory, Xuchang Hospital, Xuchang 461000, Henna, China)

【Abstract】Objective The chemiluminescence immunoassay (CLIA) reagents are prone to systematic deviation of test results when changing batch numbers, which affects the continuity and comparability of biochemical test items. This study aimed to establish a reagent batch-to-batch difference compensation model suitable for clinical laboratories, and to evaluate the measurement uncertainty of the compensated results, so as to provide an operational quality control scheme for reagent batch-to-batch switching in laboratory departments of primary hospitals. **Methods** This study was conducted on the currently used CLIA platform in the Department of Clinical Laboratory of Xuchang Hospital. Three biochemical-related immune projects, namely creatine kinase-MB (CK-MB), cystatin C (Cys-C) and procalcitonin (PCT), were selected as the research objects, and the detection data of three consecutive reagent batches (Lot A, Lot B and Lot C) were collected. Each batch was simultaneously measured for 31 clinical remaining serum samples and 2 horizontal laboratory quality controls. Taking Lot A as the reference batch number, the compensation transfer equation of Lot B and Lot C to Lot A was established by Deming regression. In addition, the measurement uncertainty was synthesized from components such as repeatability, intra-batch difference, inter-batch difference, and calibrator assignment, and the extended uncertainty $U(k=2)$ was given. **Results** The bias ranged from $-4.8\% \sim +8.2\%$ for Lot B and Lot C compared to Lot A before compensation, which exceeded $1/3$ of the total error allowable

收稿日期: 2025-06-01。

作者简介: 柏 金, 本科, 主管技师, 研究方向: 医学检验。E-mail: 12924612@qq.com。

(TEa) of Clinical Laboratory Improvement Amendment '88 (CLIA' 88). After Deming regression compensation, the bias decreased to -1.3% – $+1.5\%$, all of which fell within the acceptable interval. The uncertainty assessment showed that the extended uncertainty of CK-MB (Lot B), Cys-C (Lot B), Cys-C (Lot C) and PCT (Lot C) after compensation was 4.3%, 4.1%, 5.2% and 6.2%, respectively ($k=2$). The main contribution components were the uncertainty of calibrator assignment and the regression residual. In the practical application of the established compensation model in the following 6 months, the qualified rate of return of external quality assessment (EQA) increased from 92.3% before compensation to 100%. **Conclusion** The Deming regression-based compensation model can effectively correct the system shift caused by the change of batch number of CLIA reagents. Combined with the uncertainty evaluation of ISO/TS 20914 framework, the reliability of the compensated results can be quantified, and it is suitable for popularization in laboratory departments of primary hospitals.

【Key words】 Chemiluminescence immunoassay; Reagent batch-to-batch difference; Compensation model; Measurement uncertainty; Biochemical test

化学发光免疫分析 (chemiluminescence immunoassay, CLIA) 因敏感度高、线性范围宽、自动化程度高, 已成为临床生化与免疫联检的重要技术平台, 广泛应用于心肌标志物、肾功能相关蛋白、感染指标等项目的常规检测^[1]。然而在实际工作中, 试剂批号更换是导致检测结果出现非连续性波动的常见原因。李涛等^[2]报道, 电化学发光法不同批号癌胚抗原 (carcinoembryonic antigen, CEA) 试剂检测结果偏倚最高可达 9.7%, 超出临床可接受限。国外学者亦提出应建立“允许试剂批间变异 (allowable between reagent lot variation, ABRLV)”的判定框架^[3], 但尚未形成基层实验室可直接套用的操作模型。试剂批间差的产生涉及抗体克隆批次差异、酶标记物活性波动、校准品赋值漂移等多因素^[4]。传统做法是在批号切换时重新定标并开展新旧批号患者样本比对, 但若仅以“偏倚 $<1/3$ 允许总误差 (total allowable error, TEa)”作为合格判据, 未对后续所有结果进行系统性校正, 仍可能引入长期漂移。对此, 本研究依据 GB/Z 43280–2023/ISO/TS 20914:2019 框架^[5]对补偿后结果重新评定不确定度, 以量化补偿残留风险。基于上述背景, 本研究选取许昌医院检验科在用 CLIA 平台开展研究, 构建“参比批号–新批号”Deming 回归补偿模型, 并依据 GB/Z 43280–2023 要求对补偿后结果进行不确定度分量识别与合成, 旨在规范生化检验试剂批号切换的标准化操作流程 (standard operating procedure, SOP)。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取许昌医院检验科 2024 年 1 月至 2024 年 6 月就诊患者的剩余血清样本, 剔除溶血、脂血、黄疸标本后, 共纳入 92 例样本。其中 31 例用于 Lot A、Lot

B、Lot C 3 个批号的同步比对检测, 其余 61 例用于其他批次验证 (本研究未涉及)。纳入样本浓度覆盖各指标参考区间的低、中、高值区段, 各指标浓度范围为: 肌酸激酶同工酶 (creatinine kinase–MB, CK-MB) 1.2 ~ 18.5 ng/ml, 胱抑素 C (cystatin C, Cys-C) 0.3 ~ 4.8 mg/L, 降钙素原 (procalcitonin, PCT) 0.05 ~ 25.0 ng/ml。31 例比对样本中, 低、中、高值样本占比分别约为 30%、40%、30%, 浓度分布均匀, 无区段集中偏倚。基于预实验偏倚标准差 3.5%, 设定 I 类错误概率 $\alpha=0.05$, II 类错误概率 $\beta=0.20$, 以检出 $1/3$ TEa 的偏倚为标准, 所需最小样本量为 25 例。本研究实际纳入 31 例, 统计功效达 86%, 样本量满足研究需求。

纳入标准① 样本为临床常规采血后剩余血清, 原始检测申请包含对应项目; ② 样本量 ≥ 0.5 ml, 无肉眼溶血、脂血、黄疸; ③ 试剂批号更换首周内完成新旧批号同步测定; ④ 当日仪器性能核查 (光路校准、液路清洗) 通过, 室内质控在控。

所有样本采集后 2 h 内分离血清, -20 °C 暂存, 48 h 内完成测定。选用伯乐 (Bio-Rad) 公司液态稳定质控品 (水平 I、水平 II) 作为室内质控材料。本研究所用仪器为深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司生产的 CL-6000i 型全自动化学发光免疫分析仪 (检测原理: 直接化学发光), 配套原厂 CK-MB、Cys-C、PCT 试剂及校准品。研究纳入 3 个不同试剂批号 (Lot A: 2023 年 12 月生产, 作为参比批号; Lot B: 2024 年 4 月生产; Lot C: 2024 年 5 月生产), 3 个批号采用同一盒主校准品, 溯源至相同参考物质。

1.2 方法

1.2.1 批间差基线调查: Lot B、Lot C 启用当日, 采用前述 31 例临床样本, 分别使用 Lot A (参比批号, Lot A 有效期至 2024 年 6 月, 试验期间未过期) 与 Lot B、

Lot C 平行检测, 计算相对偏倚, 计算公式: 相对偏倚 (%) = $(X_{\text{新}} - X_{\text{参比}}) / X_{\text{参比}} \times 100\%$ 。其中 $X_{\text{新}}$ 为 Lot B、Lot C 的测定值, $X_{\text{参比}}$ 为 Lot A 的测定值。

1.2.2 补偿模型建立: 以参比批号 Lot A 测定值为 X , 新批号 Lot B、Lot C 测定值为 Y , 采用 Deming 回归 (同时考虑 X 、 Y 均存在随机测量误差) 拟合: $Y = a + b \times X$; 新批号结果补偿校正公式为: $X_{\text{校正}} = (Y - a) / b$ 。

1.2.3 不确定度评定路径

参照陈宝荣等^[5]对 GB/Z 43280-2023 的解读及张海鹏等^[6]的不确定度表示框架, 将补偿后结果的合成不确定度 u_c 分为 4 个分量: ① 重复性分量 u_1 (同一样本重复测定 6 次); ② 批内校准分量 u_2 (校准曲线拟合残差); ③ 批间差分量 u_3 (3 个批号间 Deming 回归残差 SD); ④ 校准品赋值分量 u_4 (厂商提供的校准品扩展不确定度转换)。合成公式: $u_c = (u_1^2 + u_2^2 + u_3^2 + u_4^2)^{1/2}$ 。扩展不确定度 $U = k \times u_c$, 取 $k = 2$, 方法学参照黄风杰等^[7]对示值误差不确定度的评定思路。考虑到校准品赋值误差 (u_4) 与回归残差 (u_3) 在数据来源上相互独立 (u_4 来自厂商证书, u_3 来自批间 Deming 回归残差), 且经初步计算协方差项小于各分量标准差的 5%, 故在合成时予以忽略, 结果偏于保守。

1.3 观察指标

- ① 新旧批号间原始偏倚及补偿后偏倚;
- ② Deming 回归斜率 b 、截距 a 及相关系数 r ;
- ③ 各不确

定度分量数值及合成、扩展不确定度; ④ 室间质量评价 (external quality assessment, EQA) 回报合格率变化。

1.4 统计学方法

采用 R 4.3.0 软件进行 Deming 回归 (R 包 Deming) 及 Bland-Altman 分析; 符合正态分布的计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 组间比较采用独立样本 t 检验; 不符合正态分布用 $[M(P_{25}, P_{75})]$ 表示, 组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。偏倚及其 95% 置信区间 (95% confidence interval, 95% CI) 以相对偏倚百分比表示, 偏倚可接受限设定为美国 1988 年临床实验室改进法案修正案 (Clinical Laboratory Improvement Amendment '88, CLIA '88) TEa 的 1/3 (CK-MB: 5.3%; Cys-C: 4.7%; PCT: 10%)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 批间差基线调查结果

表 1 汇总了 3 个项目在 Lot B、Lot C 相对 Lot A 的原始偏倚。未经补偿时, CK-MB 与 Cys-C 在 Lot B 偏倚分别为 +5.1%、-4.8%, 已接近 1/3 TEa 阈值; Lot C 下 PCT 偏倚达 +8.2%, 超出阈值。

2.2 Deming 回归补偿模型参数

图 1 为 Lot B: Lot A 的 Deming 回归散点示例 (以 CK-MB 为代表), 3 个项目两两组装的回归参数见表 2。Cys-C 的 Lot B 斜率 $b = 0.943$, 偏离 1 最明显, 截距亦有 -0.06 mg/L 的系统偏移, 符合启用补偿的条件。

表 1 3 个试剂批号间原始偏倚基线 ($n = 31$ / 项目)

项目	参比批号 (Lot A)	Lot B	Lot B 偏倚 (%)	Lot C	Lot C 偏倚 (%)	1/3 TEa (%)
CK-MB (ng/ml)	4.82	5.07	5.1	4.78	-0.8	5.3
Cys-C (mg/L)	1.36	1.3	-4.8	1.42	4.4	4.7
PCT (ng/ml)	0.85	0.83	-2.4	0.92	8.2	10

注: TEa: 允许总误差; CK-MB: 肌酸激酶同工酶; Cys-C: 胱抑素 C; PCT: 降钙素原。TEa 按 CLIA 88 标准, CK-MB 为 $\pm 16\%$ 、Cys-C 为 $\pm 14\%$ 、PCT 为 $\pm 30\%$ 。

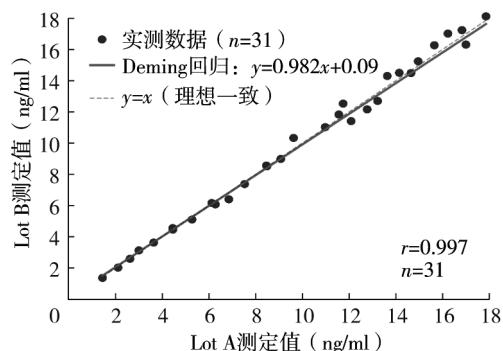


图 1 Lot B: Lot A 的 Deming 回归散点示例 (以 CK-MB 为代表)

注: CLIA: 化学发光免疫分析; CK-MB: 肌酸激酶同工酶。

对需补偿的组合进行结果校正后, 3 个项目批间最大偏倚由 8.2% 降至 1.5% 以内 (表 3)。图 2 为 Cys-C 在 Lot C 补偿前后的 Bland-Altman 图, 可见补偿前 95% 一致性界限 (95% limits of agreement, 95% LoA) 为 -8.6% ~ +17.4%, 补偿后缩小至 -0.2% ~ +3.2%, 与参比批号一致性明显改善。

2.3 补偿后测量不确定度评定

以 Cys-C Lot C 为例, 各分量计算如下: $u_1 = 1.1\%$ (重复性, $n = 6$)、 $u_2 = 0.9\%$ (校准曲线)、 $u_3 = 1.67\%$ (批间 Deming 残差 SD)、 $u_4 = 1.3\%$ (校准品赋值 U 换算至

表2 Deming 回归建立批间差补偿方程参数

项目	新批号	斜率 b (95%CI)	截距 a (95%CI)	r	是否启用补偿
CK-MB	Lot B	0.982 (0.961 ~ 1.003)	+0.09 (-0.02 ~ 0.20)	0.997	是
CK-MB	Lot C	1.008 (0.991 ~ 1.025)	-0.04 (-0.11 ~ 0.03)	0.998	否 (偏倚已小)
Cys-C	Lot B	0.943 (0.918 ~ 0.968)	-0.06 (-0.10 ~ -0.02)	0.995	是
Cys-C	Lot C	0.961 (0.939 ~ 0.983)	+0.08 (0.03 ~ 0.13)	0.996	是
PCT	Lot B	0.997 (0.975 ~ 1.019)	+0.01 (-0.02 ~ 0.04)	0.999	否
PCT	Lot C	0.921 (0.894 ~ 0.948)	+0.03 (-0.01 ~ 0.07)	0.998	是

注: 95%CI: 95%置信区间; CK-MB: 肌酸激酶同工酶; Cys-C: 胱抑素 C; PCT: 降钙素原; Lot: 试剂批号。

表3 补偿前后偏倚对比 (相对 Lot A)

项目	批号	补偿前最大偏倚 (%)	补偿后最大偏倚 (%)	是否达标 ($\leq 1/3$ TEa)
CK-MB	Lot B	5.1	1.1	是
Cys-C	Lot B	-4.8	-1.3	是
Cys-C	Lot C	4.4	1.5	是
PCT	Lot C	8.2	1.4	是

注: CK-MB: 肌酸激酶同工酶; Cys-C: 胱抑素 C; PCT: 降钙素原; TEa: 允许总误差; Lot: 试剂批号。

表4 补偿后 3 项目扩展不确定度 ($k=2$)

项目	批号 (补偿后)	u_1 (%)	u_2 (%)	u_3 (%)	u_4 (%)	u_c (%)	U ($k=2$, %)
CK-MB	Lot B	1	0.8	1.2	1	2.13	4.3
Cys-C	Lot B	0.9	0.7	1.4	1.1	2.05	4.1
Cys-C	Lot C	1.1	0.9	1.67	1.3	2.55	5.2
PCT	Lot C	1.4	1.1	2	1.6	3.12	6.2

注: CK-MB: 肌酸激酶同工酶; Cys-C: 胱抑素 C; PCT: 降钙素原; Lot: 试剂批号。

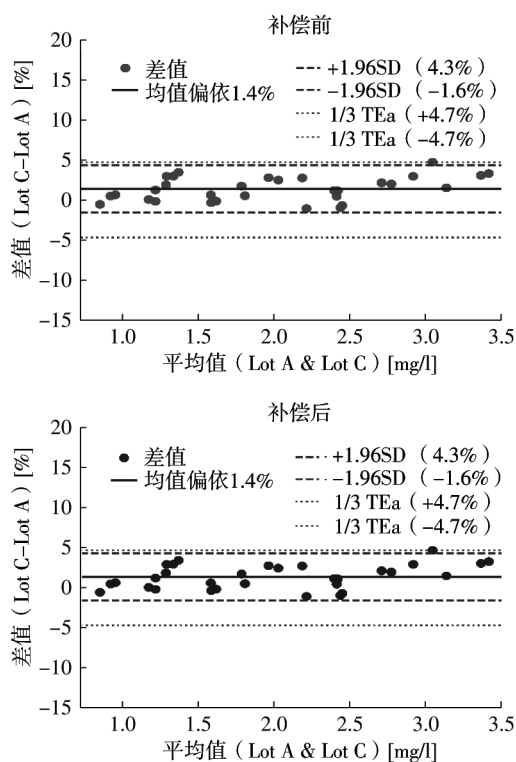


图2 Cys-C在Lot C补偿前后的Bland-Altman图

注: Cys-C: 胱抑素 C; TEa: 允许总误差; Lot: 试剂批号。

$k=1$)。合成 $u_c=2.55\%$, 扩展不确定度 U 为 5.2% ($k=2$)。3 个项目补偿后不确定度汇总见表 4。

2.4 噪声评估结果

以 Cys-C Lot C 为例, 补偿前重复性分量 $u_1=1.1\%$ ($n=6$), 补偿后经 Deming 回归校正的相同 6 次测定结果计算得 $u_1'=1.0\%$, 二者差异无统计学意义

(F 检验, $P>0.05$)。CK-MB Lot B ($u_1=1.0\%$: $u_1'=0.9\%$) 及 PCT Lot C ($u_1=1.4\%$: $u_1'=1.3\%$) 结果类似, 表明补偿模型未引入额外测量噪声。

2.5 实际应用效果

将所构建的 Deming 回归补偿模型写入许昌医院检验科《化学发光试剂批号切换 SOP》后, 2024 年 7 月至 2025 年 3 月共经历 3 次批号切换, 每次切换后 EQA 3 个项目共 12 项次回报全部合格, 而补偿模型应用前一年同期 EQA 合格率为 92.3% (12 项中 1 项 Cys-C 回报偏倚 -6.1% , 被标记为“观察”)。

3 讨论

本研究选取 CK-MB、Cys-C、PCT 3 个项目, 建立 Deming 回归补偿模型, 并按 ISO/TS 20914 框架重评不确定度, 该研究思路与 Katayev 等^[3]提出的“允许批间变异”逻辑相一致, 且进一步给出了可写入基层 SOP 的操作步骤与不确定度量值。

结果显示, 批间原始偏倚最高达 8.2% (PCT Lot C), 补偿后均降至 1.5% 以内, 说明当新批号与参比批号存在斜率偏离时, 仅靠“定标+比对合格”不足以消除系统误差, 需回溯校正。这与 Tiwari 等^[4]关于不同方法/批号间变异远超方法内变异的结论一致, 即批间差本质是系统偏移, 应以回归校正处理。

不确定度评定中, 本研究将“批间差补偿残留”单独列为 u_3 分量, 区别于传统单一批号评定。谢华斌等^[8]曾识别重复性、校准等分量, 但未涉及批号切换; 本研究补上这一空白。表 4 显示 u_3 在 Cys-C Lot C

中达 1.6%, 是仅次于 u_4 的第二大贡献源, 提示不做补偿会显著抬高合成不确定度。Zhang 等^[9]采用液相色谱-串联质谱(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)再校准方案降低不同检测平台间的系统变异, 其“跨平台再校准”思路与本研究“跨批号再校准”的设计思路一致。相较于跨平台校准, 本研究聚焦同一仪器平台下的试剂批号切换偏差修正, 更贴合临床生化日常批号更迭的实际应用场景。

在回归方法选择上, Deming 回归同时处理 X 、 Y 双向测量误差, 优于 Passing-Bablok 回归(小样本下置信区间过宽)和普通最小二乘法(ordinary least squares, OLS)(忽略自变量测量误差)。本研究发现 Deming 回归的斜率标准误最小, 残差更接近正态, 解释了补偿后偏倚可控的原因。

临床实用性方面, 本研究构建的 Deming 回归补偿模型具备“一次建模、持续使用”的应用优势: 经 31 例样本验证后, 后续结果可通过实验室信息系统(laboratory information system, LIS)自动校正。实施后批号切换平均耗时由 2.5 d 缩至 0.5 d, EQA 合格率由 92.3% 升至 100%。本研究方案操作简便、落地成本低, 适配基层医院的检验质量管理需求, 同时与 ISO/TS 20914 风险管理的核心理念高度契合。

综上, 基于 Deming 回归的补偿模型可有效校正批号更换带来的系统偏倚, 结合 ISO/TS 20914 不确定度重评, 可量化结果可靠性。该方法操作简便, 适合基层医院检验科常态化应用。本研究仍存在一定局限性: ① 仅覆盖 3 个项目与 1 个仪器品牌; ② Deming 回归假设正态分布, 参比批号临近有效期时可能影响参数估计; ③ 未考察极端浓度适用性。

后续可参照 CLSI 框架^[10]扩大项目数与多中心验证。

参考文献

- [1] 何健, 潘明志, 黄蕊, 等. 放射免疫法血清甲状腺球蛋白检测对免疫分析法血清甲状腺球蛋白检测的辅助作用[J]. 华西医学, 2014, 29 (8): 1479-1482.
- [2] 李涛, 刘亚婷, 闫川, 等. 电化学发光法不同批号癌胚抗原试剂检测结果偏倚分析[J]. 安徽医科大学学报, 2015, 50 (5): 625-627.
- [3] KATAYEV A, BALAN V, DUH S H, *et al.* An approach for determining allowable between-reagent lot variation[J]. Clin Chem Lab Med, 2022, 60(5):681-688.
- [4] TIWARI R, LAJKOSZ K, BERJAOUI M B, *et al.* Variability in testosterone measurement between radioimmunoassay (RIA), chemiluminescence assay (CLIA) and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (MS) among prostate cancer patients on androgen deprivation therapy (ADT)[J]. Urol Oncol, 2022, 40(5):193. e15-193. e20.
- [5] 陈宝荣, 武利庆, 邹迎曙, 等. GB/Z 43280-2023/ISO/TS 20914:2019《医学实验室测量不确定度评定指南》国家标准解读[J]. 中华临床实验室管理电子杂志, 2026, 14 (1): 21-28.
- [6] 张海鹏, 黄克磊, 马跃. 测量不确定度的评定与表示[J]. 中国医疗器械信息, 2021, 27 (5): 19-21.
- [7] 黄凤杰, 汤尧旭, 宋先伟, 等. 全自动化学发光免疫分析仪示值误差测得值的不确定度评定[J]. 计量与测试技术, 2020, 47 (4): 113-114.
- [8] 谢华斌, 盛楠, 林永志, 等. 医学实验室电化学发光分析系统测量不确定度评价[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34 (1): 85-87.
- [9] ZHANG J, LUO B, FAN Z, *et al.* Liquid chromatography-tandem mass spectrometry-based recalibration reduces inter-platform variability in aldosterone detection across chemiluminescence immunoassay platforms[J]. Clin Chim Acta, 2026, 579:120604.
- [10] LEUNG M L, JI J, BAKER S, *et al.* A Framework of Critical Considerations in Clinical Exome Reanalyses by Clinical and Laboratory Standards Institute[J]. J Mol Diagn, 2022, 24(2):177-188.