

## 荧光定量 PCR 测定 HBV DNA 室间质评结果的回顾分析\*

李育敏, 阚丽娟, 张水兰, 汤花梅, 李方勇, 许晓清, 熊 丹, 张秀明  
(深圳市罗湖区人民医院医学检验科, 广州深圳 518001)

**摘要:**目的 通过对乙型肝炎病毒核酸(HBV DNA)室间质量评价(external quality assessment, EQA)结果进行回顾分析, 探讨检测可能存在的误差, 为质量改进提供依据。方法 选取2016~2018年上半年该实验室参加卫计委临检中心HBV DNA项目EQA的结果, 采用能力验证(proficiency testing, PT)得分和Z比分数/标准差指数(standard deviation index, SDI)对数据进行统计, 绘制休哈特控制图, 结合室间质评质量控制规则分析EQA结果。结果 PT得分为100%, 结果合格, 当前性能为满意, 累积性能为成功。 $|Z| < 2.0$ 结果满意, 但休哈特图和用SDI和允许误差(allowed error, EA)表示的质控规则分析结果均提示可能存在系统误差。结论 通过Z比分数SDI和选择合适的质控规则对EQA结果进行分析, 可以识别HBV DNA定量检测系统存在的潜在系统误差和/或随机误差, 以指导实验室进行持续质量改进。

**关键词:**室间质评; 乙型肝炎病毒核酸; Z比分数; 标准差指数; 质量控制规则

**中图分类号:** Q503; R466 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2019)02-153-04

**doi:** 10.3969/j.issn.1671-7414.2019.02.039

## Retrospective Analysis on Results in External Quality Assessment of HBV DNA Determination by Fluorescence Quantitation PCR

LI Yu-min, KAN Li-juan, ZHANG Shui-lan, TANG Hua-mei, LI Fang-yong, XU Xiao-qing,  
XIONG Dan, ZHANG Xiu-ming (Department of Clinical Laboratory,  
Shenzhen Luohu People's Hospital, Guangdong Shenzhen 518001, China)

**Abstract:** **Objective** To analyze retrospectively the results of external quality assessment (EQA) of hepatitis B virus (HBV) DNA, and explore the probability of error, and provide the basis for quality improvement. **Methods** The results of Ministry of Health National Center for Clinical Laboratory external quality assessment for HBV DNA item from 2016 to 2018 were collected to analyze retrospectively by proficiency testing (PT) score, Z score or standard deviation index (SDI), Shewhart Chart and quality control rules of EQA. **Results** The PT score was 100% as pass. The current performance was satisfied and the cumulative performance was success. The Z score was  $< 2.0$  as satisfaction. But the Shewhart Chart and combination quality control rules of SDI and EA demonstrated the probability of systematic error. **Conclusion** Z score or SDI and quality control rules can be used to analyze EQA data, detect the potential systematic and random error existing on HBV DNA quantitative detection system, and guide the improvement of clinical laboratory quality.

**Keywords:** external quality assessment; HBV DNA; Z score; standard deviation index (SDI); quality control rules

室间质量评价(EQA)是临床实验室保证检验结果可靠和质量评价及改进的重要手段。ISO 15189:2012 和 CNAS-CL36:2012《医学实验室质量和能力认可准则在分子诊断领域的应用说明》<sup>[1]</sup>规定临床基因扩增实验室应按照 CNAS-RL02《能力验证规则》<sup>[2]</sup>的要求参加相应的能力验证/室间质评。EQA成绩可以反映实验室的检测水平, 实验室通过参加EQA获得满意的质量评价结果来证明检测系统的准确性和可靠性。HBV DNA项目的EQA数据统计是以靶值和上下限作为分析指标, 结果对数在上下限内则评价通过, 但合格的数据也可能存在潜在的系统误差和/或随机误差, 实验室除分析不及格的原因、查找误差来源和采取纠正措施外, 还应对合格数据进行分析, 识别可能

存在的潜在误差, 以及早采取纠正和预防措施, 避免失控发生, 从而提高实验室质量管理水平。使用Z比分数(或称标准差指数SDI)和质控多规则分析临床生化 and 免疫定量检测的EQA结果已被广泛的认可<sup>[3-6]</sup>, 但在临床分子诊断应用中的报道较少。本研究通过探讨HBV DNA定量检测的EQA结果分析, 为EQA定量数据性能指标在临床分子诊断中的应用提供参考。

### 1 材料与方法

**1.1 材料** HBV DNA定量检测EQA血清样品由卫计委临检中心发放, 每年发放2次, 每次测定5个批号的样本, 2016~2018年上半年共测定25份样本。质控样品按照说明书保存于-15℃以下。  
**1.2 试剂与仪器** 湖南圣湘生物科技有限公司的

\* : 基金项目: 深圳市医疗卫生三名工程(SZSM201601062)。

作者简介: 李育敏(1982—), 女, 硕士, 主治医师, 研究方向: 分子诊断, E-mail: eliyumin@126.com。

通信作者: 张秀明, E-mail: zxm0760@163.com。

HBV DNA 荧光定量 PCR 试剂盒和罗氏 cobas<sup>®</sup> z480 荧光定量 PCR 分析仪。

1.3 检测方法 将质控样品和临床标本等同处理和检测,室内质控在控时数据可接受。

#### 1.4 评价方法

1.4.1 PT 得分统计:参照美国 CLIA'88 PT 评价方法,单个测定值评价:测定值落在上下限内为可接受结果,否则为不可接受结果;单次质评:针对某一项目 PT 得分(%)=该项目的可接受结果数/该项目的总测定次数×100。PT≥80%为当前性能满意;总评:连续三次为满意,则累积性能为成功;连续两次为不满意或连续三次中有两次为不满意则为不成功。

1.4.2 休哈特控制图:参照 ISO/IEC 17043:2010 “合格评定-能力验证一般要求”,即 CNAS-CL03 《能力验证提供者认可准则》<sup>[7]</sup>,计算差值(D), $D = \chi - X$ , $\chi$ 为测定结果,X为指定值(可以是 EQA 靶值,同方法组均值或中位数)。计算百分比允许差值 $= \frac{D}{EA} \times 100, \geq 100\%$ 或 $\leq -100\%$ 为不及格。

EA 为卫计委临检中心 EQA HBV DNA 项目评价限 0.4(LOG 值)。以质评次数为 X 轴,百分比允许差值为 Y 轴,将各批次结果计算的百分比允许差值绘制在休哈特控制图上。

1.4.3 Z 比分数:参照 CNAS-CL03<sup>[7]</sup>,使用 Z 比分数(或称 SDI)进行数据统计。 $Z/(SDI) = \frac{x-X}{s}$ ,

$x$ 为同方法组均值, $s$ 为同方法组标准差。 $|Z| \leq 2.0$ 表明能力满意,无需采取进一步措施; $2.0 < |Z| < 3.0$ 表明能力可能有问题,产生警戒信号; $|Z| \geq 3.0$ 表明能力不满意,产生措施信号。根据 SDI 和 EA,结合质量控制规则<sup>[8-9]</sup>分析 EQA 结果可能存在的误差。

## 2 结果

2.1 PT 评分统计 2016~2018 年上半年我室测定的 25 份 HBV DNA 项目 EQA 样本结果及评分见表 1。2016~2018 年上半年 5 次 EQA 结果的 PT 得分均为 100%,当前性能为满意,累积性能为成功。

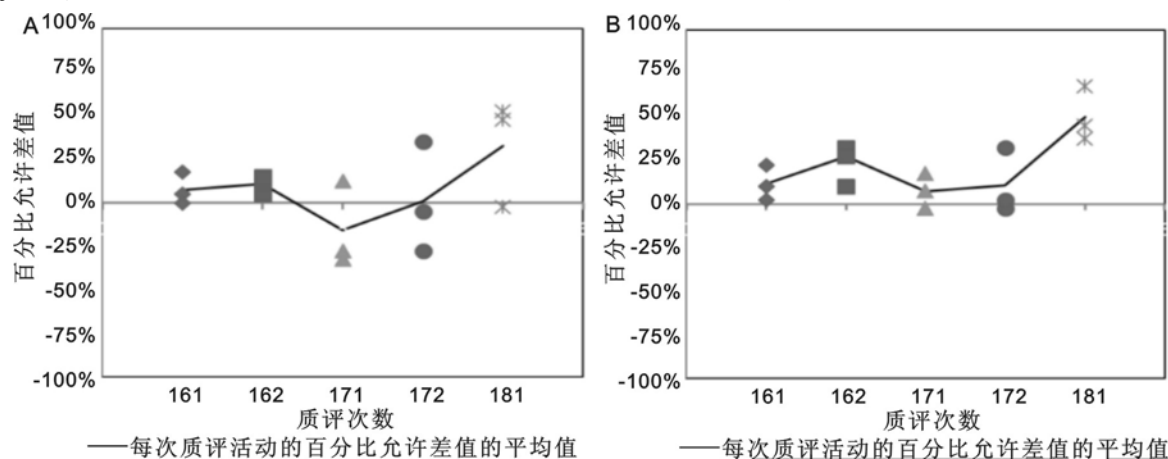
表 1 2016~2018 年上半年 EQA HBV DNA 项目 PT 结果及 Z 比分数统计(LOG 值)

| 样本编号 | 本室结果 | 靶值   | D <sub>1</sub> | 同方法组均值 | D <sub>2</sub> | s    | Z  值  | 上下限        | 评价结果 |
|------|------|------|----------------|--------|----------------|------|-------|------------|------|
| 1611 | 0    | 0    | 0              | 0      | 0              | —    | —     | -1.00~1.00 | 通过   |
| 1612 | 5.59 | 5.52 | 0.07           | 5.5    | 0.09           | 0.16 | 0.56  | 5.12~5.92  | 通过   |
| 1613 | 4.48 | 4.46 | 0.02           | 4.44   | 0.04           | 0.17 | 0.24  | 4.06~4.86  | 通过   |
| 1614 | 4.99 | 4.99 | 0              | 4.98   | 0.01           | 0.14 | 0.07  | 4.59~5.39  | 通过   |
| 1615 | 0    | 0    | 0              | 0      | 0              | —    | —     | -1.00~1.00 | 通过   |
| 1621 | 5.48 | 5.46 | 0.02           | 5.44   | 0.04           | 0.18 | 0.22  | 5.06~5.86  | 通过   |
| 1622 | 0    | 0    | 0              | 0      | 0              | —    | —     | -1.00~1.00 | 通过   |
| 1623 | 0    | 0    | 0              | 0      | 0              | —    | —     | -1.00~1.00 | 通过   |
| 1624 | 4.33 | 4.28 | 0.05           | 4.2    | 0.13           | 0.18 | 0.72  | 3.88~4.68  | 通过   |
| 1625 | 4.71 | 4.65 | 0.06           | 4.6    | 0.11           | 0.17 | 0.65  | 4.25~5.05  | 通过   |
| 1711 | 0    | 0    | 0              | 0      | 0              | —    | —     | -1.00~1.00 | 通过   |
| 1712 | 5.28 | 5.23 | 0.05           | 5.21   | 0.07           | 0.13 | 0.54  | 4.83~5.63  | 通过   |
| 1713 | 0    | 0    | 0              | 0      | 0              | —    | —     | -1.00~1.00 | 通过   |
| 1714 | 4.66 | 4.79 | -0.13          | 4.67   | -0.01          | 0.13 | -0.08 | 4.39~5.19  | 通过   |
| 1715 | 4.37 | 4.48 | -0.11          | 4.34   | 0.03           | 0.14 | 0.21  | 4.08~4.88  | 通过   |
| 1721 | 4.64 | 4.75 | -0.11          | 4.65   | -0.01          | 0.14 | -0.07 | 4.35~5.15  | 通过   |
| 1722 | 0    | 0    | 0              | 0      | 0              | —    | —     | -1.00~1.00 | 通过   |
| 1723 | 5.22 | 5.24 | -0.02          | 5.21   | 0.01           | 0.13 | 0.08  | 4.84~5.64  | 通过   |
| 1724 | 5.82 | 5.68 | 0.14           | 5.69   | 0.13           | 0.13 | 1.00  | 5.28~6.08  | 通过   |
| 1725 | 0    | 0    | 0              | 0      | 0              | —    | —     | -1.00~1.00 | 通过   |
| 1811 | 4.49 | 4.5  | -0.01          | 4.34   | 0.15           | 0.16 | 0.94  | 4.10~4.90  | 通过   |
| 1812 | 0    | 0    | 0              | 0      | 0              | —    | —     | -1.00~1.00 | 通过   |
| 1813 | 5.3  | 5.09 | 0.21           | 5.12   | 0.18           | 0.16 | 1.13  | 4.69~5.49  | 通过   |
| 1814 | 0    | 0    | 0              | 0      | 0              | —    | —     | -1.00~1.00 | 通过   |
| 1815 | 4.8  | 4.61 | 0.19           | 4.53   | 0.27           | 0.17 | 1.59  | 4.21~5.01  | 通过   |

注:D<sub>1</sub>. 结果与靶值差值;D<sub>2</sub>. 结果与同方法组均值差值;s. 同方法组均值标准差。

2.2 休哈特控制图 将2016~2018年上半年的EQA HBV DNA检测样本中的15份阳性结果绘制于休哈特控制图上,所有结果均在百分比允许差值限(-100%~100%)内,见图1。将本室结果与EQA靶值比较,2016年第1次和第2次结果出现

连续正偏倚,但偏倚较小,且不精密度小;2017年~2018年的3次结果分布于“0”线两侧,但不精密度较2016年增大(图1A)。而将本室结果与EQA同方法组均值比较,5次结果则出现连续正偏倚,且后面两次不精密度增大(图1B)。



注:A. 结果与EQA靶值比较;B. 结果与同方法组均值比较;161. 2016年第1次;162. 2016年第2次;171. 2017年第1次;172. 2017年第2次;181. 2018年第1次。

图1 2016~2018年上半年5次EQA HBV DNA项目的百分比允许差值图

2.3 Z比分数 各批次数据统计均 $|Z| < 2.0$ , 结果满意(表1),但结合SDI和EA,按照室间质评的质控规则分析<sup>[8-9]</sup>,结果违背规则 $2_{1.0SDI}$ 和 $5_{\bar{x} \pm 1.150\%EA}$ ,提示可能存在系统误差。

3 讨论 室间质量评价数据的统计方法有变异指数得分(variance index score, VIS)法、PT得分法和Z比分数(SDI)法。我国现已不再采用VIS法,而且HBV DNA项目也无推荐的选定变异系数(CCV)。本实验室首先参照美国CLIA'88 PT评价方法对2016~2018年上半年HBV DNA项目EQA结果进行分析,从单个测定值、单次质评和总评三个层次来看,所有测定结果均在允许上下限内,为可接受结果,5次EQA结果的PT得分均为100%,当前性能为满意,累积性能为成功。通过PT得分方法可判断不及格的结果和不成功的PT成绩,但是合格的结果也可能存在潜在的系统误差和/或随机误差。

临床实验室除分析EQA不及格的原因外,还应对合格数据进行统计分析。本实验室进一步采用Z比分数(SDI)法分析EQA合格数据,以监控EQA结果的趋势及识别潜在误差。结果表明各批次数据均 $|Z| < 2.0$ ,结果满意;但结合SDI和EA,按照EQA质控多规则分析<sup>[8-9]</sup>,违背规则 $2_{1.0SDI}$ 和 $1_{150\%EA}$ ,提示可能存在系统误差,需采取纠正和预防措施改进实验室的检验质量。稳健的Z比分数统计方法能更好消除离群值的影响<sup>[3,10]</sup>,但是通常实验室无法获得第25和第75百分位数来计算四分位间距(IQR),因此可直接采用传统的Z比分数(SDI)结合质控多规则分析EQA结果。由

于Z比分数代表实验室测定结果与同方法组均值的相对偏离距离,因此Z比分数的大小体现了检验结果的可比性,是对评价项目的标准化估计且适用于分析各种结果值。

休哈特控制图可清晰的展示每次结果的可比性和帮助理解数据的分析结果。将测定结果与均值的相对偏离转换为百分比允许差值,即可采用标准化的方式将多次结果绘制于休哈特图上。图1显示将测定结果与EQA靶值比较,2016年两次结果出现连续正偏倚,但偏倚较小,2017年第1次结果则偏倚降低,5次结果百分比允许差值均值分布于“0”线两侧,但后3次结果不精密度增加;而将结果与EQA同方法组均值比较,5次结果出现连续正偏倚,且2018年第1次结果明显偏上,提示可能存在系统误差。由于EQA样本经过加工,与临床样本存在差异,因此应按方法学或其他方式进行分组统计,以同方法组均值或中位数来计算差值。本室的数据分析也提示测定结果与同方法组均值进行统计较EQA靶值存在明显系统误差,表明与同方法组均值进行比较更有助于实验室及时、客观地识别潜在误差。

综上所述,临床实验室应首先评价PT成绩,如不及格则分析原因、查找误差来源及采取纠正措施;其次采用Z比分数(SDI)结合EQA质控多规则分析合格数据,识别可能存在的潜在误差;第三,采用PT得分和Z比分数报表(表1)展示EQA统计数据,既体现检验结果的可比性(Z比分数大小),又可采用评价限对差值(D)指标进行评价;第四,采用休哈特控制图显示每次 (下转159页)

(上接 155 页)EQA 结果的可比性,利于结果的比较。总之,实验室可采用以上几种评价方法综合评价 EQA 结果,以指导实验室进行持续质量改进。

#### 参考文献:

- [1] 中国合格评审国家认可委员会. CNAS-CL36. 医学实验室质量和能力认可准则在分子诊断领域的应用说明[S]. 北京:中国标准出版社,2012.  
China National Accreditation Service for Conformity Assessment. CNAS-CL36. Guidance on the application of accreditation criteria for the medical laboratory quality and competence in the field of molecular diagnostics[S]. Beijing:China Standard Press,2012.
- [2] 中国合格评审国家认可委员会. CNAS-RL02. 能力验证规则[S]. 北京:中国标准出版社,2016.  
China National Accreditation Service for Conformity Assessment. CNAS-RL02. Rules for proficiency testing[S]. Beijing:China Standard Press,2016.
- [3] 赵海建,张传宝,何法霖,等. 常规化学检测项目室间质量评价数据统计新方法探讨[J]. 检验医学,2013,28(7):625-628.  
ZHAO Haijian, ZHANG Chuanbao, HE Falin, et al. The study on new statistical method for the data of external quality assessment in routine chemistry items[J]. Laboratory Medicine, 2013, 28(7): 625-628.
- [4] 余晓刚,颜崇淮. 2010~2014 年参加卫生部血铅检测室间质评结果回顾分析[J]. 检验医学,2015,30(2):191-194.  
YU Xiaogang, YAN Conghui. Retrospective analysis on blood lead measurement results in external quality assessment organized by the Ministry of Health from 2010 to 2014[J]. Laboratory Medicine, 2015, 30(2): 191-194.
- [5] 杨淑哲,王秦,陈丽依,等. 应用室间质评数据评价实验室内内分泌项目检测能力[J]. 中国医学装备,2017,14(3):40-43.  
YANG Shuzhe, WANG Qin, CHEN Linong, et al. To evaluate the detection capabilities of endocrine pro-

grams by using the data of external quality assessment of NCCL[J]. China Medical Equipment, 2017, 14(3):40-43.

- [6] 刘宓,杨欢,刘脩,等. 肿瘤标志物室间质评结果的回顾性分析[J]. 实验与检验医学,2012,30(2):156-158.  
LIU Mi, YANG Huan, LIU Xiao, et al. Retrospective analysis of tumor markers' external quality assessment results[J]. Experimental and Laboratory Medicine, 2012, 30(2): 156-158.
- [7] 中国合格评审国家认可委员会. CNAS-CL03. 能力验证提供者认可准则[S]. 北京:中国标准出版社,2010.  
China National Accreditation Service for Conformity Assessment. CNAS-CL03. Accreditation criteria for proficiency testing providers[S]. Beijing:China Standard Press,2010.
- [8] 赵海建,张传宝,王薇,等. 定量检测室间质量评价数据分析中的质量控制规则[J]. 中华检验医学杂志,2015,38(5):357-358.  
ZHAO Haijian, ZHANG Chuanbao, WANG Wei, et al. Quality control rules used in external quality assessment of quantitative assay in clinical laboratories[J]. Chin J Lab Med, 2015, 38(5): 357-358.
- [9] 赵海建,张传宝,汪静,等. 质量控制规则软件在定量检测室间质量评价数据分析中的应用[J]. 检验医学,2016,31(4):319-323.  
ZHAO Haijian, ZHANG Chuanbao, WANG Jing, et al. Quality control rule softwares for datum analysis in external quality assessment of quantitative assays[J]. Laboratory Medicine, 2016, 31(4): 319-323.
- [10] 金中淦,居漪,唐立萍,等. 四分位数稳健统计和迭代稳健统计在室间质量评价结果分析中的比较[J]. 临床检验杂志,2013,31(7):545-546.  
JIN Zhonggan, JU Yi, TANG Liping, et al. Comparison of quartile robust statistic method and iteration robust statistic method used in results analysis of external quality assessment[J]. Chin J Clin Lab Sci, 2013, 31(7): 545-546.

收稿日期:2018-07-06

修回日期:2018-09-26