



中华人民共和国医药行业标准

YY/T XXXX—XXXX

红细胞计数和白细胞计数参考测量程序 测量不确定度评定指南

Guidelines for the measurement uncertainty evaluation of the erythrocytes and
leucocytes reference measurement procedures

征求意见稿

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

国家药品监督管理局 发布

前 言

本标准按照GB/T1.1-2020 《标准化工作导则第1部分：标准化文件的结构和起草规则》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。

本标准由国家药品监督管理局提出。

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：

本标准主要起草人：

红细胞计数和白细胞计数参考测量程序测量不确定度评定指南

1 范围

本标准给出了评定红细胞计数和白细胞计数参考测量程序测量不确定度的指南。

本标准适用于血细胞分析参考测量实验室评定红细胞计数和白细胞计数参考测量程序的测量不确定度。

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，仅所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。

JJF 1059.1 《测量不确定度评定与表示》

JJF 1001 《通用计量术语及定义》

ISO/IEC 指南 98-3 《测量不确定度第3部分：测量不确定度表示指南》（GUM）

ISO/IEC 指南99（VIM）计量学术语和定义

3 术语和定义

GB/T 29791.1界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1 参考测量程序 reference measurement procedure

被接受作为提供适合下列预期用途的测量结果的测量程序，预期用途包括评价测量同类量的其他测量程序测得量值的测量正确度、校准或参考物质赋值。

[ISO 15193:2009 3.7]

3.2 测量不确定度的A类评定 type A evaluation of standard uncertainty

简称A类评定（Type A evaluation）

对在规定测量条件下测得的量值用统计分析的方法进行的测量不确定度分量的评定。

[JJF 1001 5.20]

3.3 测量不确定度的B类评定 type B evaluation of standard uncertainty

简称B类评定（Type B evaluation）

用不同于测量不确定度A类评定的方法对测量不确定度分量进行的评定。

示例：

评定基于以下信息：

- 权威机构发布的量值；
- 有证参考物质的量值；
- 校准证书；
- 仪器的漂移；

- 经检定的测量仪器的准确度等级；
- 根据人员经验推断的极限值等。

[JJF 1001 5.21]

3.4 合成标准不确定度 combined standard uncertainty

由在一个测量模型中各输入量的标准测量不确定度获得的输出量的标准测量不确定度。

注：如果测量模型中的输入量相关，当计算合成不确定度时应考虑协方差。

[JJF 1001 5.22]

3.5 相对标准不确定度 relative standard uncertainty

全称**相对标准测量不确定度**（relative standard measurement uncertainty）

标准不确定度除以测得值的绝对值。

[JJF 1001 5.23]

3.6 扩展不确定度 expanded uncertainty

全称**扩展测量不确定度**（expanded measurement uncertainty）

合成标准不确定度与一个大于1的数字因子的乘积。

注1：该因子取决于测量模型中输出量的概率分布类型及所选取的包含概率。

注2：本定义中术语“因子”是指包含因子。

[JJF 1001 5.27]

3.7 包含因子 coverage factor

为获得扩展不确定度，对合成标准不确定度所乘的大于1的数。

注：包含因子通常用符号 k 表示。

[JJF 1001 5.30]

3.8 不确定度报告 uncertainty budget

对测量不确定度的陈述，包括测量不确定度的分量及其计算和合成。

注：不确定度报告应该包括测量模型、估计值、测量模型中与各个量相关联的测量不确定度、协方差、所用的概率密度分布函数的类型、自由度、测量不确定度的评定类型和包含因子。

[JJF 1001 5.25]

4 红细胞计数和白细胞计数参考测量程序

血细胞分析参考测量实验室应运行红细胞计数和白细胞计数参考测量程序进行量值传递。

红细胞计数和白细胞计数参考测量程序推荐：JCTLM网站列表的参考测量程序、国际血液学标准化委员会（ICSH）推荐的参考测量程序及相关国家标准、行业标准、卫生标准中规定的参考测量程序。

红细胞计数和白细胞计数参考测量程序需符合相关参考测量程序标准的要求，例如ISO 15193等。

5 测量不确定度评定

5.1 测量不确定度主要来源

红细胞计数和白细胞计数参考测量程序的不确定度主要来源归于以下几个方面，血细胞分析参考测量实验室重点评定以下（不限于）来源的测量不确定度：

- a) 测量精密度；
- b) 移液器的体积；
- c) 容量瓶的体积；
- d) 电子细胞计数仪标准器的进样体积；
- e) 细胞重叠计数校正（红细胞计数参考测量程序适用）。

5.2 建立测量模型

血细胞分析参考测量实验室根据自己的参考测量程序建立红细胞计数和白细胞计数测量模型。

5.3 标准不确定度评定

5.3.1 测量精密度引入不确定度 (u_{rep})

测量精密度引起的测量不确定度属于 A 类不确定度，是累计多次参考测量方法运行的数据得到的。血细胞分析参考测量实验室应运行至少半年，收集多份新鲜血样进行测量。其评定方法是每份新鲜血样重复测量 n 次 ($n \geq 10$)，得到一组数据；重复测量 m ($m \geq 20$) 份新鲜血样，则得到 m 组数据。每个标本单个测得值 x_k 的合并标准偏差表达为：

$$S(x_k) = \sqrt{\frac{1}{m(n-1)} \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n (x_{ij} - \bar{x}_i)^2} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

i ——组数， $i=1, 2, \dots, m$ ；

j ——每组测量的次数， $j=1, 2, \dots, n$ 。

用上述方法，对某个新鲜血样进行 n' 次测量时，所得结果的 A 类不确定度为：

$$u_{rep} = \frac{S(x_k)}{\sqrt{n}} \dots\dots\dots (2)$$

5.3.2 移液器引入的不确定度 u_p

稀释过程中移液器引入的不确定度主要为 B 类不确定度。查看移液器计量校准证书，按照公式计算不确定度为：

$$u_p = \frac{\alpha}{k} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

α ——被测量可能区间的半宽度。

注：例如：校准证书提供的校准值，给出了其扩展不确定度为 U ，则区间的半宽度 $\alpha=U$ 。

k ——置信因子，根据概率分布和要求的概率 P 确定 k 值。

5.3.3 容量瓶引入的不确定度 u_f ：

稀释过程中容量瓶引入的不确定度主要为 B 类不确定度。主要有两个不确定度来源：

第一是确定容量瓶内部体积时的不确定度,按计量校准证书或者制造商给出的最大允许误差进行计算,不确定度为 u_{f1} ,根据公式计算得出:

$$u_{f1} = \frac{\alpha}{k} \dots\dots\dots (4)$$

α ——被测量可能区间的半宽度。

注:例如:生产厂家提供的最大允许误差为 $\pm\Delta$,并经计量部门检定合格,则 $\alpha=\Delta$ 。

k ——置信因子,根据概率分布和要求的概率 P 确定 k 值。

第二是容量瓶和溶液温度与容量瓶体积校准时的温度不同所产生的不确定度来源。假定温度相差 4°C ,如果忽略玻璃膨胀的影响,由于水的体膨胀系数为 $2.1 \times 10^{-4}/^{\circ}\text{C}$,因此1000mL容量瓶产生的体积变化为 $\pm 1000 \times 4 \times 2.1 \times 10^{-4} = \pm 0.84\text{mL}$,假定按照矩形分布转化,则 $u_{f2} = \frac{0.84}{\sqrt{3}} = 0.5\text{mL}$ 。

由此可得出:

$$\text{容量瓶引入的标准不确定度 } u_f = \sqrt{u_{f1}^2 + u_{f2}^2} \dots\dots\dots (5)$$

5.3.4 电子细胞计数仪标准器的进样体积 (u_m)

吸样体积的不确定度引入的不确定度主要为半自动电子细胞计数仪,主要为B类不确定度,按照制造商提供的信息或校准证书,依据公式计算不确定度 u_m 。

$$u_m = \frac{\alpha}{k} \dots\dots\dots (6)$$

式中:

α ——被测量可能区间的半宽度。

注:例如:生产厂家提供的最大允许误差为 $\pm\Delta$,并经计量部门检定合格,则 $\alpha=\Delta$ 。

k ——置信因子,根据概率分布和要求的概率 P 确定 k 值。

5.3.5 细胞重叠计数校正引入不确定度 (u_{cc})

重叠计数校正引入不确定度是B类不确定度,可以根据制造商提供的数据或者重叠计数校正报告确定 α 值,按下列公式进行计算。

$$u_{cc} = \frac{\alpha}{k} \dots\dots\dots (7)$$

式中:

α ——被测量可能区间的半宽度。

注:例如:制造商提供的报告给出误差限为 $\pm\Delta$,则 $\alpha=\Delta$ 。

k ——置信因子,根据概率分布和要求的概率 P 确定 k 值。

5.2.6 主要输入量标准不确定度表

按照上述计算公式分别计算各输入量的标准不确定度和相对不确定度,并填写下表:

输入量	符号	输入量值	单位	灵敏系数	分布	评定类型	标准不确定度	相对标准不确定度
测量精密度	$precision$	/	$10^{12}/L$	α_{pre}	正态	A	u_{pre}	$u_{rep,rel}$
移液器体积	V_p	/	μL	α_p	正态	B	u_p	$u_{p,rel}$
容量瓶体积	V_f	/	mL	α_f	矩形	B	u_f	$u_{f,rel}$
电子细胞计数仪的进样体积	V_m	/	μL	α_m	正态	B	u_m	$u_{m,rel}$
重叠计数校正	cc	/	个	α_{cc}	正态	B	u_{cc}	$u_{cc,rel}$

5.4 合成标准不确定度的计算

在确定和量化影响测量不确定合成各分量后，计算合成标准不确定度，公式如下：

方法一：用灵敏系数评定合成不确定度：

$$u_{c,RBC} = \sqrt{(\alpha_{pre} \times u_{pre})^2 + (\alpha_p \times u_p)^2 + (\alpha_f \times u_f)^2 + (\alpha_m \times u_m)^2 + (\alpha_{cc} \times u_{cc})^2} \dots\dots\dots (8)$$

$$u_{c,WBC} = \sqrt{(\alpha_{pre} \times u_{pre})^2 + (\alpha_p \times u_p)^2 + (\alpha_f \times u_f)^2 + (\alpha_m \times u_m)^2} \dots\dots\dots (9)$$

按下列公式计算相对不确定度：

$$u_{c,RBC,rel} = \frac{u_{c,RBC}}{C_{RBC}} \times 100\% \dots\dots\dots (10)$$

$$u_{c,WBC,rel} = \frac{u_{c,WBC}}{C_{WBC}} \times 100\% \dots\dots\dots (11)$$

方法二：如果测量模型中只有乘和除运算，可以用相对不确定度评定相对合成不确定度：

$$u_{c,RBC,rel} = \sqrt{(u_{pre,rel})^2 + (u_{p,rel})^2 + (u_{f,rel})^2 + (u_{m,rel})^2 + (u_{cc,rel})^2} \dots\dots\dots (12)$$

$$u_{c,WBC,rel} = \sqrt{(u_{pre,rel})^2 + (u_{p,rel})^2 + (u_{f,rel})^2 + (u_{m,rel})^2} \dots\dots\dots (13)$$

按下列公式计算标准不确定度：

$$u_{c,RBC} = u_{c,RBC,rel} \times C_{RBC} \times 100\% \dots\dots\dots (14)$$

$$u_{c,WBC} = u_{c,WBC,rel} \times C_{WBC} \times 100\% \dots\dots\dots (15)$$

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 ，按照下列公式计算扩展不确定度：

$$U = k \times u_{c,RBC} \dots\dots\dots (14)$$

$$U = k \times u_{c,WBC} \dots\dots\dots (15)$$

6 测量不确定度评定结果的报告与表示

6.1 测量不确定报告内容应预期确定，至少包括以下内容：

- a) 红细胞计数和白细胞计数的测量模型；
- b) 不确定度来源；
- c) 主要不确定度来源及评定过程
- d) 报告测量结果，包括被测量的估计值及其测量不确定度。

通常测量不确定度报告除文字说明外，必要时可将上述主要内容和数据列成表格。

6.2 赋值结果及其不确定度的报告形式举例：

RBC计数： $5.201 \times 10^{12}/L$ ， $U=0.048 \times 10^{12}/L$ ($k=2$)；

WBC计数： $6.628 \times 10^9/L$ ， $U=0.125 \times 10^9/L$ ($k=2$)；

附录 A
(资料性附录)

运行红细胞计数和白细胞计数参考测量程序主要器具的计量学性能要求

测量项目	设备名称	计量参数	性能要求	备注
RBC	移液器	容量允差	20 μL±0.8 μL	提供不确定度
	单标线容量瓶	容量允差	1000 mL±0.4 mL	提供不确定度
	半自动电子细胞计数仪	吸样体积最大允差	1%	提供不确定度
WBC	移液器	容量允差	20 μL±0.8 μL 100 μL±2 μL	提供不确定度
	单标线容量瓶	容量允差	50 mL±0.05 mL 100 mL±0.10 mL 500 mL±0.25 mL	提供不确定度
	半自动电子细胞计数仪	吸样体积最大允差	1%	提供不确定度

表 1 运行红细胞计数和白细胞计数参考测量程序主要器具的计量学性能要求

附录 B

(资料性附录)

红细胞计数参考测量程序测量不确定度评定方法举例

C.1 测量不确定度评定

C.1.1 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：

- 测量精密度；
- 移液器的体积；
- 容量瓶的体积；
- 电子细胞计数仪的进样体积；
- 重叠计数校正。

C.1.2 建立数学模型

测量结果的计算公式见式 (C.1、C.2)

$$C_{RBC} = \frac{C_c}{V_m} \times \frac{V_s + V_d}{V_s} \dots\dots\dots (C.1)$$

$$C_c = a + b \cdot C_m \dots\dots\dots (C.2)$$

C_{RBC} ——血液样本中红细胞数量 (个/L)；

C_c ——重叠计数校正后的红细胞个数 (个)；

V_m ——半自动电子细胞计数仪计数体积 (mL)；

V_s ——原级稀释样本体积 (mL)；

V_{d1} ——原级稀释稀释液体积 (mL)；

C_m ——半自动电子细胞计数仪显示的红细胞个数；

a ——重叠校正线性回归公式的截距；

b ——重叠校正线性回归公式的斜率。

C.1.3 评定标准不确定度

C.1.3.1 测量精密度

血细胞分析参考测量实验室运行一年，累计 20 份新鲜血样本，原始数据见下表：

表 B.1 20 份新鲜血样本红细胞计数

m \ n	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	5.325	5.344	5.339	5.346	5.333	5.385	5.331	5.357	5.340	5.325
2	5.232	5.244	5.244	5.229	5.230	5.260	5.241	5.260	5.216	5.232
3	4.225	4.212	4.234	4.212	4.213	4.199	4.225	4.218	4.213	4.225
4	4.690	4.662	4.697	4.700	4.701	4.679	4.657	4.731	4.716	4.690
5	4.964	4.973	5.004	4.967	4.993	4.972	5.034	5.030	4.996	4.964
6	5.371	5.348	5.386	5.398	5.354	5.341	5.383	5.412	5.384	5.371
7	5.437	5.447	5.441	5.460	5.436	5.420	5.451	5.442	5.455	5.437

8	5.037	5.038	5.029	5.022	5.007	5.026	5.017	5.040	5.038	5.037
9	5.131	5.137	5.112	5.125	5.114	5.132	5.117	5.130	5.121	5.131
10	3.833	3.830	3.849	3.834	3.821	3.811	3.790	3.769	3.785	3.833
11	5.325	5.330	5.358	5.353	5.352	5.346	5.362	5.348	5.371	5.325
12	4.148	4.197	4.219	4.207	4.199	4.230	4.190	4.189	4.207	4.148
13	5.305	5.358	5.304	5.323	5.357	5.294	5.337	5.348	5.336	5.305
14	5.185	5.200	5.232	5.246	5.225	5.192	5.231	5.224	5.237	5.185
15	4.495	4.505	4.515	4.505	4.515	4.505	4.525	4.525	4.505	4.495
16	3.739	3.720	3.759	3.759	3.720	3.749	3.759	3.759	3.739	3.739
17	4.943	4.933	4.923	4.953	4.923	4.953	4.943	4.963	4.913	4.943
18	4.724	4.724	4.744	4.734	4.724	4.704	4.734	4.704	4.704	4.724
19	4.912	4.947	4.934	4.896	4.954	4.903	4.934	4.936	4.887	4.912
20	4.376	4.303	4.317	4.315	4.278	4.372	4.388	4.372	4.394	4.376

根据公式 $S(x_k) = \sqrt{\frac{1}{m(n-1)} \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n (x_{ij} - \bar{x}_i)^2} = \sqrt{\frac{1}{20 \times (10-1)} \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n (x_{ij} - \bar{x}_i)^2} = 0.01915 \times 10^{12}/L$

假如对单个新鲜血样本进行 10 次测量，则所得结果的 A 类不确定度为：

$$u_{rep} = \frac{S(x_k)}{\sqrt{n}} = \frac{0.01915}{\sqrt{10}} = 0.006054 \times 10^{12}/L$$

假如单个新鲜样本测量 10 次的平均值为 $4.912 \times 10^{12}/L$ ，则测量精密度的相对不确定度为：

$$u_{rep,rel} = \frac{u_{rep}}{C_{RBC}} = \frac{0.006054}{4.912} = 0.1315\%$$

C1.3.2 移液器引入的不确定度 u_p

查看移液器计量校准证书， $20\mu L$ 移液器校准误差为 $\pm 0.070\mu L$ ，则 $\alpha = 0.070\mu L$ ，按照正态分布， $k=2$ ，得：

$$u_p = \frac{\alpha}{k} = \frac{0.070}{2} = 0.035\mu L$$

$$u_{p,rel} = \frac{u_p}{20} = 0.175\%$$

$$\text{移液器灵敏系数 } \alpha_p = \frac{C_{RBC}}{V_p} = \frac{4.912 \times 10^{12}/L}{20 \times 10^{-6}L} = 0.2456 \times 10^{18}/L^2$$

C1.3.3 容量瓶引入的不确定度 u_f

查看容量瓶计量校准证书， $1000 mL$ 容量瓶偏差为 $\pm 0.3 mL$ ，则 $\alpha = 0.3 mL$ 。按照矩形分布得

$k = \sqrt{3}$ ，按照公式得 $u_{f1} = \frac{\alpha}{k} = \frac{0.3}{\sqrt{3}} = 0.2158 mL$ 。 $u_{f2} = \frac{0.84}{\sqrt{3}} = 0.5 mL$ 。根据公式得：

$$u_f = \sqrt{u_{f1}^2 + u_{f2}^2} = \sqrt{0.2158^2 + 0.5^2} = 0.5446 mL$$

$$u_{f,rel} = \frac{u_f}{1000} = \frac{0.5446}{1000} = 0.0545\%$$

$$\text{容量瓶灵敏系数 } \alpha_f = \frac{C_{RBC}}{V_f} = \frac{4.912 \times 10^{12}/L}{1L} = 4.912 \times 10^{12}/L^2$$

C1.3.4 电子细胞计数仪的进样体积 (u_m)

根据制造商提供的说明书,电子细胞计数仪的进样体积为 $1048.8\mu\text{L} \pm 2.510\mu\text{L}$ 。由此得出 $\alpha = 2.510\mu\text{L}$ 。按照正态分布, $k=2$, 则

$$u_m = \frac{\alpha}{k} = \frac{2.510}{2} = 1.255\mu\text{L}$$

相对不确定度:

$$u_{m,rel} = \frac{u_m}{1048.8} = 0.1197\%$$

$$\text{电子细胞计数仪的进样体积灵敏系数 } \alpha_m = \frac{C_{RBC}}{V_m} = \frac{4.912 \times 10^{12}/\text{L}}{1048.8 \times 10^{-6}\text{L}} = 0.0047 \times 10^{18}/\text{L}^2$$

C1.3.5 细胞重叠计数校正引入不确定度 (u_{cc})

根据制造商提供的重叠计数校正报告,得校正粒子数量 92000 个,补正粒子数为 713 个,因此 $\alpha = 713$ 个,按照正态分布, $k=2$, 根据公式计算得

$$u_{cc} = \frac{\alpha}{k} = \frac{713}{2} = 356 \text{ 个}$$

计算相对不确定度得

$$u_{cc,rel} = \frac{u_{cc}}{92000} = 0.3875\%$$

$$\text{重叠计数校正灵敏系数 } \alpha_{cc} = \frac{C_{RBC}}{a+b \cdot C_m} = \frac{4.912 \times 10^{12}/\text{L}}{1.2181 \times 92000 - 8202.2} = 0.00005 \times 10^{12}/\text{L}$$

C1.3.6 主要输入量标准不确定度表

按照上述计算公式分别计算各输入量的标准不确定度和相对不确定度,并填写下表:

输入量	符号	输入量值	单位	分布	评定类型	标准不确定度	相对标准不确定度	灵敏系数	转化后标准不确定度
测量精密度	$precision$	4.912	$10^{12}/\text{L}$	正态	A	0.006054	0.1315%	1	0.006054
移液器体积	V_p	20	μL	正态	B	0.035	0.175%	$0.2456 \times 10^{18}/\text{L}^2$	0.0086
容量瓶体积	V_f	1000	mL	矩形	B	0.5446	0.0545%	$4.912 \times 10^{12}/\text{L}^2$	0.0026
电子细胞计数仪的进样体积	V_m	1048.8	μL	正态	B	1.255	0.1197%	$0.0047 \times 10^{18}/\text{L}^2$	0.0059

重叠计数 校正	cc	92000	个	正态	B	356	0.3875%	0.00005 × 10 ¹² /L	0.0178
------------	----	-------	---	----	---	-----	---------	-------------------------------------	--------

注：转化后标准不确定度=标准不确定度×灵敏系数，并统一单位为× 10¹²/L

C1.4 合成标准不确定度的计算

根据公式得

$$u_{C,RBC} = \sqrt{(\alpha_{pre} \times u_{pre})^2 + (\alpha_p \times u_p)^2 + (\alpha_f \times u_f)^2 + (\alpha_m \times u_m)^2 + (\alpha_{cc} \times u_{cc})^2} = \sqrt{0.006054^2 + 0.0086^2 + 0.0026^2 + 0.0059^2 + 0.0178^2} = 0.022 \times 10^{12}/L$$

C1.4 扩展不确定度的计算

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 ，按照下列公式计算扩展不确定度：

$$U = k \times u_{C,RBC} = 2 \times 0.022 = 0.044 \times 10^{12}/L$$

C2 测量不确定度评定结果的表示

红细胞计数结果为：4.912× 10¹²/L， $U=0.044 \times 10^{12}/L$ ， $k = 2$ 。

参 考 文 献

- [1]International Council for Standardization in Haematology.Reference method for the enumeration of erythrocytes and leucocytes[J].Clin Lab Haematol,1994,16(2):131-138.
- [2]WS/T 245 红细胞和白细胞计数参考方法
- [3]JJF 1059.1-2012 测量不确定度评定与表示。
- [4]CNAS-CL07-A002 医学参考测量实验室认可准则在血细胞分析参考测量领域的应用说明。
- [5]ISO 15193 《In vitro diagnostic medical devices —Measurement of quantities in samples of biological origin — Requirements for content and presentation of reference measurement procedures》。