

- (5);503-504.
- [2] 李德辉. 基质金属蛋白酶 9 对慢性乙型肝炎及肝硬化患者肝纤维化程度的评估[J]. 中国全科医学, 2011, 14(9): 945-947.
- [3] 刘群, 李传敏, 王敏, 等. 妊娠期高血压病患者血浆同型半胱氨酸、叶酸、血管内皮生长因子变化及临床意义[J]. 实验与检验医学, 2009, 27(6): 630-632.
- [4] 刘娟娟, 高英堂, 杜智, 等. 亚甲基四氢叶酸还原酶 C677T 多态性与 HBV 感染后疾病转归的关系[J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18(15): 1555-1562.
- [5] 谢伟坚, 梅麒, 张业昆. 叶酸对高血压病合并缺血性脑卒中患者的

- 二级预防[J]. 广东医学, 2011, 32(10): 1336-1337.
- [6] 唐灵, 陈春莲, 苏桂兰, 等. 2 型糖尿病患者内脂素、脂联素和 C 反应蛋白变化及其临床意义[J]. 中国全科医学, 2011, 23(14): 2616-2618.
- [7] 冯玉良, 戴一扬, 郑培奋, 等. 血清脂联素水平与胃癌转移的相关性研究[J]. 实用医学杂志, 2011, 27(6): 976-978.
- [8] 徐建春. 肝硬化患者红细胞免疫功能的变化与血清脂联素水平的相关性分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2010, 17(5): 282-283.

(收稿日期: 2014-06-05)

基于离子色谱技术对血清氯离子常规系统的正确度评价*

沈 敏, 方 亮, 吴立山[△], 屠敏敏, 吴 旦, 周 芸
(宁波美康生物科技股份有限公司参考实验室, 宁波浙江 315104)

摘 要:目的 以离子色谱法为比对方法, 评价电极法和硫氰酸汞法测定血清氯离子的正确度。方法 用离子色谱法测定 2011~2013 年的 RELA 样本, 27 份新鲜单份血清和校准品中的氯离子, 同时采用电极法和硫氰酸汞法在自动生化分析仪上检测血清中氯离子和校准品中的氯离子, 测定结果依据 EP9-A2 文件进行方法学比对进行评价。结果 电极法和硫氰酸汞法与离子色谱法比对的直线方程分别为 $Y=1.0181X+2.2780$, $Y=0.6793X+34.222$ 平均偏移分别为 4.05% 和 1.59%。结论 离子色谱法能准确测定血清中氯离子的含量。依据 EP9-A2 文件, 电极法与离子色谱法的正确度性能一致, 硫氰酸汞法与离子色谱法的正确度性能不一致。为保证临床样本的准确测量, 各厂家和临床界都急需建立常规检测项目的测量正确度评价方法来评价常规测量系统的正确度。

关键词:血清氯离子; 离子色谱法; 电极法; 硫氰酸汞法; 正确度

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.24.076

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)24-3454-02

血清氯指的是血清中氯离子的浓度。氯是人体细胞外液中主要的阴离子, 在调节人体酸碱平衡和水分布方面起重要作用^[1]。人体内血清氯的正常值为 98~106 mmol/L。当血清氯值升高时, 常见于高钠血症、呼吸性碱中毒、高渗性脱水、肾炎少尿及尿道阻塞; 而血清氯降低时, 常见于低血钠症, 严重呕吐、腹泻, 胃液、胰液、胆汁大量丢失、肾功能减退等^[2]。因此, 血清氯作为临床医学诊断的一个重要指标, 准确测定人体中的氯离子含量具有重要意义。目前, 测定血清氯的常规方法有硫氰酸汞比色法、离子选择性电极法、酶偶联法^[3-4]。这些方法通常借助于全自动生化分析仪实现, 虽然能测定血清氯离子的含量, 检测效率也得到了较大的提升, 但是在准确度上仍有待验证。因此, 我们需要能为常规检测系统向参考体系溯源的测量方法, 并对常规方法的正确度进行评价。

目前, 检验医学溯源联合委员会公布的血清氯的参考测量方法是库伦滴定法^[5], 该方法能准确测定血清中氯离子的含量, 但是在测定中其终点难以准确判定, 因此测定结果可能会存在一定的偏差。而决定性方法-电感耦合等离子体质谱法虽然正确度和稳定性都非常好, 但是运行所需费用较大^[6]。因此, 现行的参考测量方法不适宜进行推广应用。针对这个问题, 需要寻找一种更适合的血清氯的测量方法, 能准确测定血清中氯离子的含量。本次研究中, 以离子色谱法为基础, 测定血清中氯离子的含量, 并对其准确性进行验证。并以离子色谱法为比对方法, 评价电极法和硫氰酸汞比色法测定血清氯离子的正确度, 以期得到电极法和硫氰酸汞比色法的正确度评价结果, 为血清氯的临床检测的正确性提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂 氯化钠标准物质(纯度 99.999%), 实验室用水为 Milli-Q 水, 硫氰酸汞法所用试剂。

1.1.2 仪器 Dionex ICS 1100 型离子色谱仪, 配 AS40 自动进样器, EG50 自动淋洗液发生器(OH-型), ASRS 4 mm 抑制器; Ion Pac AS 9HC 阴离子交换柱和 Ion Pas AG 9HC 保护柱; Chromeleon 7.1.2 色谱工作站; OLYMPUS AU 2700 自动生化分析仪; 日立 7180 自动生化分析仪(Hitachi 公司, 日本); XS205DU 型分析天平(METTLER TOLEDO, Switzerland); Milli-Q 纯水仪(Millipore, Japan); Eppendorf 移液器(Eppendorf AG, Germany); 容量瓶; 0.45 μm 针筒式滤膜过滤器(Millipore, USA)等。

1.1.3 样本 新鲜血清样本, 2011 年、2012 年和 2013 年 IFCC-RELA 样本, 电极法校准品, 硫氰酸汞法校准品。

1.2 方法

1.2.1 离子色谱法

1.2.1.1 样本前处理方法 采用超纯水直接稀释法配制。

1.2.1.2 测定方法 淋洗液: 氢氧化钾溶液为 10 mmol/L; 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 25 μL; 采集时间 30 min; 电导检测; 外标法峰面积定值。

1.2.2 电极法 在日立 7180 自动生化分析仪上用 2011 年 RELA 样本和朗道血清样本做室内质控, 随机测定 27 份血清样本及回测定标液。

1.2.3 硫氰酸汞比色法 在 OLYMPUS AU2700 自动生化分析仪上用 2011 年 RELA 样本做室内质控, 随机测定 27 份血清样本及回测高低值定标液。

1.3 统计学处理 采用 Excel 软件依据 EP9-A2 文件要求^[7], 以离子色谱法作为比对方法, 评价电极法和硫氰(下转插 II)

* 基金项目: 宁波市自然科学基金资助项目(2014A610196)。 [△] 通讯作者, E-mail: wulishan@163.com。

(上接第 3454 页)

酸汞法两种常规分析系统测量结果的正确度。

2 结 果

2.1 离子色谱法的正确度验证 根据 1.2.1.1 方法处理 IFCC-RELA 样本,测定结果如表 1 所示。IFCC 国际室内质评要求的氯离子等效限为±2%,用离子色谱法测定的 2011~2013 年的 IFCC-RELA 样本中的氯离子值均在等效限内。

2.2 电极法和硫氰酸汞比色法测定结果比较 采用电极法和硫氰酸汞法在不同的分析系统上检测 27 份新鲜单份血清样本。如图 1 所示(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”),X 轴为电极法检测所得的氯离子含量,Y 轴为硫氰酸汞法检测所得的氯离子含量。其回归直线方程为 $Y =$

$0.662\ 5X + 33.200, R^2 = 0.985\ 5$ 。电极法的测定结果明显高于硫氰酸汞法。

2.3 常规方法与离子色谱法的比对 采用离子色谱法,电极法和硫氰酸汞法同时测定 27 份普通血清样本。依据 EP-A2 文件要求,以离子色谱法为 X 轴,分别以电极法和硫氰酸汞法为 Y 轴,进行方法学比对,如图 2(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)和图 3 所示(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。同时,以改良 Bland-Altman 图形分析法进行评价,发现电极法的测量系统与离子色谱法测量结果一致,但系统偏高;硫氰酸汞法的测量系统与离子色谱法的测量结果不一致,呈低值偏高,高值偏低。

表 1 IFCC-RELA 样本测定结果($n=5$,mmol/L)

年份	RELA-A				RELA-B			
	<i>c</i>	CV(%)	Target	Bias(%)	<i>c</i>	CV(%)	Target	Bias(%)
2011 年	98.44	0.43	99.96	-1.1	109.72	0.19	111.70	-1.13
2012 年	95.60	0.76	96.59	-0.17	107.04	0.67	108.60	-0.25
2013 年	110.66	0.44	109.88	+0.71	113.76	0.81	112.97	+0.70

IFCC 规定的 Cl^- 的等效限为±2%;靶值为各参考实验室均值。

3 讨 论

血清氯离子的浓度是临床上进行疾病判断的重要依据。目前,临床上血清氯离子浓度的测定通常借助于自动生化分析仪实现。因此,为准确测定血清中氯离子的含量,有必要对血清氯离子常规方法测定的正确度进行评价。

本次研究主要对两种常规测定方法-电极法和硫氰酸汞法测定血清氯离子的正确度进行了评价。用这两种方法同时测定 27 份新鲜单份血清样本中的氯离子含量,由图 1 可知,两者的线性回归方程为 $Y = 0.6625X + 33.200$,结果表明这两种方法测出来的结果明显不一致。为了进一步验证这两种方法的正确度,依据 EP9-A2 文件进行方法学的比对。选取离子色谱法作为比对方法,首先测定了 2011 年和 2013 年的 RELA 样本,2011 年 RELA-A 的偏倚为 0.43%,RELA-B 的偏倚为 0.19%,2012 年 RELA-A 的偏倚为 0.76%,RELA-B 的偏倚为 0.67%,都在 IFCC 要求的 2% 的等效限内,且不精密度和正确度较好。因此,离子色谱法可以作为评定氯离子待评方法正确度的比对方法。

依据 EP9-A2 文件将电极法和离子色谱法进行方法学的比对,常规方法的正确性依据回归方程斜率 $K = 1.00 \pm 0.02$ 且斜率接近于 0、设定偏移值进行判断。由图 2 可知,其回归直线方程为 $Y = 1.018\ 1X + 2.278\ 0$,可见电极法和离子色谱法的相关性较好,但由图 4~5(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)可知,电极法的测定结果偏高,平均偏移为 4.05%。因此,可以判定电极法的测量结果准确,但是这个系统存在偏移,需要校准系统使测定结果更加准确。硫氰酸汞法和离子色谱法的方法学比对的回归直线方程为 $Y = 0.679\ 3X + 34.222$,其相关性较差。硫氰酸汞法测定的结果与离子色谱的结果不一致,低值偏高,高值偏低。因此,可以判定硫氰酸汞法测定血清氯离子的结果不正确。

根据 EP9-A2 文件方法和改良 Bland-Altman 图形法综合分析,电极法可以较准确测定血清氯离子的含量,但存在系统偏移,所有测定值偏高,需要对校准品重新赋值;硫氰酸汞法的

测定方法存在缺陷,测定高值偏低,低值偏高,需要进一步校准系统和作相应的方法改进进行优化。由此可见,不同的常规方法测定临床样本的结果会存在较大差异。为保证临床样本的准确测量,各厂家和临床界都急需建立常规检测项目的测量正确度评价方法来评价常规测量系统的正确度^[8]。

参考文献

[1] 黄爱军,施洋,顾光煜. 常见阴离子对血清氯离子选择性电极法测定的影响[J]. 实用医技杂志,2003,10:1118-1119.
[2] Marinenko G, Taylor JK. Precise coulometric titrations of halides. Journal of research of the national bureau of standards-A [J]. Physics and Chemistry,1963,67(1):31-35.
[3] Schoenfeld RG, Lewellen CJ. A colorimetric method for determination of serum chloride[J]. Clinical Chemistry,1964,10(5):533-539.
[4] 陈建华,徐小燕. 电极法与终点法测氯离子的实验对比[J]. 海南医学,2003,14(3):198.
[5] A reference method for the determination of chloride in serum[J]. NBS special publication,260-267.
[6] Kramer U, Kress M, Reinauer H, et al. Candidate reference measurement procedures for chloride, potassium, sodium, calcium, magnesium, and lithium by inductively coupled plasma (isotope dilution) sector field mass spectrometry (ICP-(ID) SFMS) in serum[J]. Clin Lab,2013,59(9-10):1017-1029.
[7] EP9-A2: Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline[S]. USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2002.
[8] 陈宝荣,孙慧颖,邵燕,等. IFCC 参考方法对两种测量系统 GGT 结果正确性的验证[J]. 标记免疫分析与临床,2011,18(5):336-341.