

- chronic obstructive pulmonary disease[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2002, 165(7): 967-971.
- [13] STAPLES K J, POUNCE Z, WALLINGTON J C, et al. Impaired phagocytosis of nontypeable Haemophilus influenzae by human alveolar macrophages in chronic obstructive pulmonary disease[J]. J Infect Dis, 2006, 194(10): 1375-1384.
- [14] 梁倩, 贺鹏, 余卫中, 等. 慢性阻塞性肺疾病合并慢性呼吸衰竭患者血乳酸联合 BNP 检测对患者预后影响研究 • 短篇论著 •

- [J]. 标记免疫分析与临床, 2018, 25(3): 372-374.
- [15] 邹奇, 陈杰, 李春生, 等. ERCP 治疗时机的选择对 AOSC 患者呼吸爆发及炎性因子水平的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(24): 3374-3376.
- [16] 陈娟, 马小安, 魏丹. 血必净联合胸腺肽 $\alpha 1$ 对重症肺炎合并脓毒症患者血清 PCT、hs-CRP 的影响及疗效分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(1): 90-93.

(收稿日期: 2018-09-30 修回日期: 2018-12-14)

基于火焰原子发射光谱法血清钠离子候选参考方法的建立*

刘春龙, 胡月, 薛利宁, 任轶昆, 孙茜

(生化诊断试剂检验技术北京市重点实验室, 北京 100176)

摘要:目的 建立基于火焰原子发射光谱法的血清钠离子候选参考方法并评估其基本性能。方法 使用钠离子国家标准物质配制标准曲线校准血清钠离子候选参考方法, 用国际标准物质 909C 评估方法的正确度, 用利德曼公司两浓度工作校准品评估方法的精密度, 通过参加 2016 年国际参考实验室外部质量评估计划(Rela)进一步验证方法的性能。结果 钠离子标准曲线线性方程为 $Y=0.0012407X+0.0066857$, $r^2=0.9992$; 正确度评估结果为偏移 -0.53% ; 利德曼公司高低两浓度工作校准品的总不精密度分别为 0.57% 和 1.23% , 两者均小于 1.50% ; Rela 结果在等效限范围内。结论 基于火焰原子发射光谱法的血清钠离子候选参考方法建立成功, 为血清钠离子试剂盒的量值溯源提供了保障。

关键词: 血清钠离子; 火焰原子发射光谱法; 候选参考方法; 性能评估

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.06.028

中图法分类号: R155.5

文章编号: 1673-4130(2019)06-0745-03

文献标识码: B

钠离子是细胞外液如血液中最多的阳离子, 对保持细胞外液容量、调节酸碱平衡、维持正常渗透压和细胞生理功能具有重要意义, 并参与维持神经-肌肉的正常应激性。细胞外液钠浓度的改变可由水、钠任一含量的变化而引起, 所以钠平衡紊乱常伴有水平衡紊乱。水与钠的正常代谢及平衡是维持人体内环境稳定的重要因素。因此, 血清钠的测定具有重要的临床意义, 尤其有助于电解质紊乱的治疗。然而, 由于临床常规检验血清钠离子的方法学较多, 且不同方法学之间存在一定的差异, 导致其测量结果的标准化工作困难重重。近年以临床检验标准化为目的的量值溯源受到重视^[1]。建立稳定有效的参考方法对于促进钠离子检验标准化具有重要价值是行业内共识。临床检验参考方法的主要作用是建立和评价常规方法的准确性^[2]。本研究基于火焰原子发射光谱法, 尝试建立一种稳定性好, 准确度高(正确度和精密度良好)的血清钠离子候选参考方法, 为体外诊断厂家钠离子常规测量系统向参考系统溯源提供新的途径。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料 氯化钠 GBW(E)060024C 国家标准物质(纯度 99.97%)、浓硝酸(浓度 15.4 mol/L)、氯化钾(钠含量 $\leq 0.02\%$), 均购自 Sigma 公司。

1.1.2 仪器 岛津 AA-7000 原子吸收分光光度计、哈密尔顿 Microlab-500 型稀释配液仪、赛多利斯 CP225D 型电子天平、Eppendorf 移液器。

1.2 试剂配制

1.2.1 总原则 所有与试剂、水或样本接触的的玻璃或者塑料器皿均按下面的序列清洗: 放在 0.77 mol/L HNO_3 中浸泡 60 min, 然后用去离子水冲洗(至少 6 次), 最后在无尘环境中倒置自然干燥。

1.2.2 配制步骤 (1) 氯化钾(KCl)稀释液(KCl 4.5 mmol/L): 称取 0.336 g KCl, 在转移到 1 000 mL 容量瓶中, 用去离子水定容, 颠倒 20 次混匀。氯化钾溶液作为钠标准贮备液的稀释液和空白贮备液使用。保存条件: $2\sim 8\text{ }^\circ\text{C}$ 。(2) 钠标准贮备液: 准确称取

* 基金项目: G20 工程龙头企业培育-生化诊断试剂质量性能评价研究及标准品体系建立(Z161100001816043); 医疗器械(体外诊断试剂)检测与参考品评价服务平台(Z141102007414001)。

本文引用格式: 刘春龙, 胡月, 薛利宁, 等. 基于火焰原子发射光谱法血清钠离子候选参考方法的建立[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(6): 745-747.

0.642 8、0.701 3、0.759 7、0.818 2、0.876 6 和 0.935 0 g 干燥的编号为 GBW(E)060024C 的国家标准物质,分别转移至 100 mL 容量瓶中,用氯化钾稀释液(4.5 mmol/L)定容,颠倒 20 次混匀。保存条件:2~8 ℃。(3)全部溶液都放至室温,用稀释配液仪按 1:100 用水稀释钠标准贮备液和样本。

1.3 测量参数 岛津 AA-7000 原子吸收分光光度计参数设置为波长 589.5 nm、光谱带宽 0.2 nm、气体类型 Air-C2H2、燃气流量 1.8 L/min、燃烧头高度 7 mm。

1.4 测量步骤 调零后测量从 160 mmol/L 的标准贮备液稀释的标准液发射光相对强度,发射光相对强度值的重复性在±0.5%以内,仪器达到稳定状态。分别测量空白和标准液,并记录它们的发射光相对强度值 E(仪器自动扣除空白)。用扣除空白后的发射光的相对强度值做标准曲线,回归系数 r^2 应大于 0.999 0。用国际标准物质 909C 评估方法的正确度,重复测量 3 次。用利德曼公司两浓度工作校准品评估方法的精密度,每天重复测量 5 次,连续 3 d。

1.5 统计学处理 以浓度值为 X 轴,扣除空白后的发射光的相对强度值为 Y 轴,使用 Excel2007 软件绘制线性回归图,即标准曲线。国际参考实验室能力验证计划(Rela)中钠离子的合格标准为小于 1.25%,计算国际标准物质 909C 实测值与靶值的相对偏移,为保证所建立参考方法满足 Rela 的要求,本研究制定相对偏移合格标准为小于 1.00%;计算利德曼公司两浓度工作校准品实测值的总不精密度,依据利德曼公司企业标准,合格标准为小于 1.50%。

2 结 果

2.1 方法的线性 对该候选参考方法进行优化后,标准曲线实验结果见图 1,线性方程为 $Y=0.001\ 240\ 7X+0.006\ 685\ 7$, $r^2=0.999\ 2>0.999\ 0$ 。

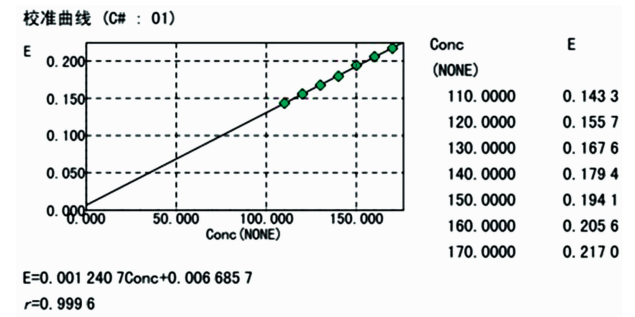


图 1 钠离子标准曲线

2.2 方法的正确度 国际标准物质 909C 靶值为 141.84 mmol/L,实测值与靶值偏移均小于 1.0%,正确度验证通过,实测数据见表 1。

2.3 方法的精密度 利德曼公司高低两浓度工作校准品的总不精密度分别为 0.57%和 1.23%,两者均小于 1.50%,精密度验证通过,实测数据见图 2,图中不同形状的点分别代表 3 d 的精密度验证结果分布

情况。

表 1 钠离子正确度		
样品	实测值(mmol/L)	偏移(%)
909C-1	141.14	-0.49
909C-2	140.66	-0.83
909C-3	141.46	-0.27
均值	141.09	-0.53

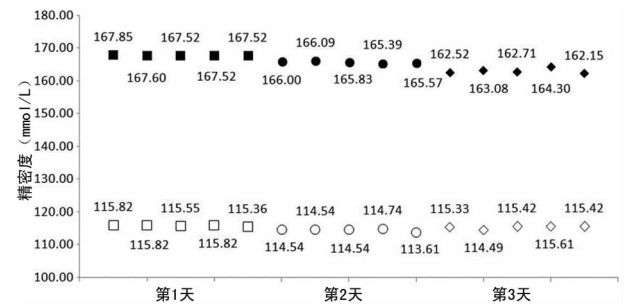


图 2 钠离子精密度散点图

2.4 Rela Rela 结果在等效限范围内,进一步可证明所建方法的正确度和可靠性。回报结果见图 3,箭头所标示点为本实验室结果,其他方框代表各测量结果的不确定度。

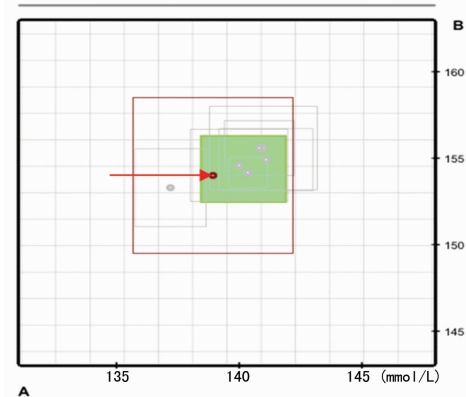


图 3 Rela 钠离子回报结果

3 讨 论

准确的临床检验结果,具有跨时空的可比性,是防病治病和提高人类健康水平的基本需要,也是检验医学界的工作目标^[3]。其中血清钠离子的检测由于实验室常规方法有离子选择性电极法、原子吸收分光光度法、火焰光度法、比色法和酶法等,不同的方法学之间存在一定的差异。血清钠离子又是临床医生判断电解质紊乱情况的重要指标,量值溯源被认为是实现临床检验标准化唯一而有效的途径,而参考系统(包括参考物质、参考测量程序、参考实验室),尤其是参考测量程序在实现量值溯源过程中起到承上启下的作用^[4-5]。因此各体外诊断厂家有必要按临床化学和检验医学联合会(IFCC)的标准,建立血清钠离子的参考方法。也可通过方法学比对的方法,将常规方法与之比较,以体现常规方法的正确度^[6]。

火焰原子吸收光谱法被广泛应用于金属元素的测定,测定简便,结果可靠^[7]。本研究建立的钠离子候选参考方法基于火焰原子发射光谱法,将血清用去离子水采用称重法准确稀释,进行分析与测定。发射光谱法是测定被测离子的发射光相对强度。样品中的钠原子接受火焰的热能而被激发处于激发态。激发的原子不稳定,立即发射出特定波长的光线,迅速回到基态。发射光线的强度与样品中的钠离子的浓度呈正比关系^[8]。该研究的创新点在于通过优化火焰原子吸收光谱法的参数和流程建立了钠离子参考方法,可作为钠离子检测的“金标准”,为钠离子的量值溯源工作提供了基础。需要说明的是,该参考方法运行成本较高,通量较小,不适用于临床实验室的常规测量,建议在规范的医学参考实验室运行。该方法良好的精密度是实现标准化的重要前提和基础。如果不解决实验室内测量精密度问题,测量标准化则无从谈起^[9]。

参考方法的建立务必建立在对各个细节的严格确认的基础上。按照参考实验室的标准进行试剂配制,控制“人、机、料、法、环”^[10-11]。本研究中仪器设备的状态非常重要,如岛津 AA-7000 使用前主机需预热 60 min 以上,空心阴极灯需预热 30 min 以上。确认火焰状态,调整分压阀空气压力为 0.35~0.38 MPa,乙炔气瓶需调整压力为 0.09~0.10 MPa。检查燃烧器,确认预混合室和雾化器中洁净无异物。吸入超纯水后预热机器 10 min。文中所述制备溶液的物质均指 100% 含量,若不足,应按照纯度进行换算。选用稀释配液仪对钠标准贮备液和样本进行稀释,可明显提高测量的重复性水平。对于钠浓度较高的样品,会因稀释倍数过大,降低测定的精密度,因此常选用次灵敏线测定^[12]。

从理论上讲,各个医院检验科每日常规工作的结果,均应溯源至参考系统的结果^[13]。本文所建立的候选参考方法,仍需进一步研究和完善,补充该方法的抗干扰、稳健性等^[14]。该法的建立可促进血清钠离子的标准化进程,为体外诊断厂家常规试剂盒的量值溯源提供了新的途径^[15]。同时,运行该参考方法的实验室必须满足 ISO17025 和 ISO15195 的基本要求^[16-17]。

本研究成功建立了基于火焰原子发射光谱法的血清钠离子候选参考方法,可极大地推进血清钠离子的标准化进程,为血清钠离子试剂盒的量值溯源提供了保障。

参考文献

[1] 陈文祥,杨振华. 临床生化检验参考方法发展历史与现状

以及国内研究进展[J]. 中华检验医学杂志,2009,32(5):489-492.

- [2] 陈文祥,申子瑜,杨振华. 临床生化检验参考方法及其主要分析原理[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(3):245-248.
- [3] 戴新华,李红梅,齐韬. 临床检验量值溯源及其标准物质的研究现状[J]. 化学分析计量,2007,16(5):7-9.
- [4] 郭玮,陈方俊,潘柏申. 胆固醇检测方法的发展历史及标准化[J]. 检验医学,2013,28(11):970-974.
- [5] 汪静,张传宝,居漪,等. 国际临床化学联合会酶学测定参考方法实验室网络的初步建立[J]. 中华检验医学杂志,2008,31(3):258-263.
- [6] 陈宝荣.“方法学比较”法评价临床实验室定量测量方法正确度时应注意的问题与对策[J]. 临床检验杂志,2012,30(10):821-825.
- [7] 柴龙龙,王凤山,王彦厚,等. 火焰原子吸收分光光度法测定血液保存液Ⅲ中钠含量[J]. 中国药业,2016,25(19):59-60.
- [8] RANCE A, VELAPOLDI, ROBERT C, et al. A reference method for the determination of sodium in serum[J]. NBS Special Publication, 1978, 20(2):260-266.
- [9] 陈宝荣,孙慧颖,邵燕,等. 从中日血脂检验比对结果分析中国血脂测量标准化现状[J]. 中华临床实验室管理电子杂志,2014,2(3):169-174.
- [10] 刘春龙,金仁玲,孙慧颖,等. 胆碱酯酶德国参考方法基础性能研究[J]. 检验医学与临床,2014,11(9):1184-1188.
- [11] 孙慧颖,胡滨,刘春龙,等. 试剂原料对 α -淀粉酶参考方法测定结果影响的临床研究[J]. 检验医学与临床,2016,13(3):297-299.
- [12] 中华人民共和国国家标准. 水质钾和钠的测定火焰原子吸收分光光度法:GB11904-89[S]. 北京:中华人民共和国国家标准,1990.
- [13] 杨振华. 临床酶学展望与标准化[J]. 中华检验医学杂志,2003,26(12):726-728.
- [14] 刘春龙,胡滨,孙慧颖,等. 参考实验室外部质量评估计划天冬氨酸氨基转移酶稳定性评价[J]. 临床检验杂志,2015,33(11):871-872.
- [15] 徐国宾,吴楠,王清涛. 要重视血清酶学测定的标准化工作[J]. 临床检验杂志,2007,15(3):161-164.
- [16] INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories: ISO17025[S]. International Organization for Standardization, 2005.
- [17] INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Laboratory medicine-requirements for reference measurement laboratories: ISO15195[S]. International Organization for Standardization, 2003.

(收稿日期:2018-10-26 修回日期:2019-01-11)