

• 质控与标规 •

血清钾测定的国际比对^{*}张 瑞¹, 王清涛^{1,2△}

(1. 首都医科大学附属北京朝阳医院检验科, 北京 100020; 2. 北京市临床检验中心, 北京 100020)

摘要:目的 通过参加国际环形比对试验, 验证该实验室的分析检测能力。方法 将钴元素作为内标加入血清样品, 1% 硝酸将血清准确稀释 100 倍, 选择和优化电感耦合等离子质谱(ICP-MS) 分析条件后, 测定国际比对样本 A 和 B。美国国家标准与技术研究机构(NIST) 血清标准物质 SRM909b I 用来评价方法的准确度。比对样本测定 3 批, 每批测定 4 次, 以考察分析的批内和批间精密度及总不确定度。结果 SRM909b I 测定均值在“靶值±不确定度[(3.424 ± 0.025) mmol/L]”范围内。比对样本 A、B 两水平的测定结果分别为(4.08 ± 0.033) mmol/L, (2.86 ± 0.025) mmol/L, 与平均值相比偏倚分别为 0.87% 和 0, 在规定的“等效限”±2% 范围内。A、B 两水平的样本测定总变异系数为 0.18%~0.23% (n=12)。结论 比对工作顺利完成, 在技术水平上与国外同类实验室水平相当, 进一步验证血清钾电感耦合等离子体质谱钴内标法准确、可靠。

关键词:钾; 钴; 实验室技术和方法**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2014.06.036**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2014)06-0738-03Determination of serum potassium in ring trial program^{*}Zhang Rui¹, Wang Qingtao^{1,2△}(1. Department of Clinical Laboratory, Beijing Chaoyang Hospital of Capital Medical University, Beijing 100020, China;
2. Beijing Clinical Center For Laboratory, Beijing, 100020, China)**Abstract: Objective** To verify capabilities of analysis and detection of laboratory by participating in international ring trial.**Methods** Serum samples were diluted with 1% HNO₃ supplemented with 59 Cobalt as isotope internal standard, and potassium of sample was measured by ICP-MS. Standard Reference Materials 909b I of National Institute of Standards and Technology was used to evaluate the accuracy, serum samples A and B were used to evaluate the precision of the method, uncertainty was calculated.**Results** The mean result of SRM909b I was (3.424 ± 0.025) mmol/L. The result of sample A was (4.08 ± 0.033) mmol/L and the result of sample B was (2.86 ± 0.025) mmol/L, the bias compared with the average was 0.87% to 0, which was in the prescript “equivalent limit” ± 2% range. The analytical precision of serum samples A and B measurement was 0.18% to 0.23%. **Conclusion** The work has been completed successfully, the technical level in our country is same as the level of similar foreign laboratories, It was to further validate ICP-MS method of cobalt as internal standard for the measurement of serum potassium is accurate and reliable.**Key words:**potassium; cobalt; laboratory techniques and procedures

为了保证测量结果的可比性^[1-3], 国际上陆续建立起了血清钾测定的决定性方法和参考方法, 美国国家标准和技术研究机构(NIST)建立了同位素稀释热电离质谱法(isotope dilution-thermal ionization mass spectrometry, ID-TIMS)为测定血清钾的决定性方法, 同时建立了同位素稀释电感耦合等离子质谱法(isotope dilution-inductively coupled plasma mass spectrometry, ID-ICP/MS)为测定血清钾的参考方法^[4]。为了逐步实现我国的血清钾测定标准化体系与国际接轨, 之前在 NIST 的基础上笔者进行了改进, 以⁵⁹Co 替代⁴¹K 作为内标, 建立了 ICP-MS 测定血清钾的候选参考测量方法。量值溯源是提高检验质量的重要手段^[5-7], 而开展量值溯源工作需要参考系统^[8-9], 即参考测量程序、参考物质和参考测量实验室。2002 年检验医学溯源联合委员会(JCTLM)成立, 主要负责评审参考测量程序和参考物质及认定参考实验室。为配合其工作, 国际临床化学联合委员会(international federation of clinical

chemistry, IFCC)于 2003 年发起了环形比对试验, 每年进行一次, 统一向参加比对的各参考实验室运送传递样品, 开展比对工作。目的是通过收集不同实验室不同分析系统的测定结果, 构建国际比对数据库, 考察分析方法的可靠性, 验证或确定标准物质的靶值, 同时考核各国参与机构的分析检测能力。2010 年 9 月, 笔者应用已建立的参考方法参加了该比对。

1 资料与方法

1.1 仪器与试剂 PerkinElmer Elan DRC II 型电感耦合等离子体质谱仪(美国 PerkinElmer 公司); Mettler AE240 万分之一电子天平(Mettler, 德国); Milli-Q 净化水装置(Millipore, 法国); Eppendorf Reference 移液器; 钴元素标准溶液(1 000 μg/mL, 国家计量科学院标准物质研究中心); 血清电解质标准物质: 美国国家标准和技术研究(NIST) 提供的 SRM956c 水平 I、II、III, SRM909b 水平 I、II; 69% 浓硝酸(北京化学试剂研究所)。

1.2 标准溶液和内标溶液选择、配制 分别称量 0.107 0、

* 基金项目: 国家高技术研究发展计划“863 计划”重大项目“体外诊断产品技术开发”(2011AA02A116)。 作者简介: 张瑞, 女, 主管技师, 主要从事临床检验标准化研究。 △ 通讯作者, E-mail: wqt36@163.com。

0.174 2、0.244 0、0.313 7、0.386 3 g 的 SRM956cI, 加入 0.160 0 g 浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的钴内标溶液, 然后加入 1% 稀硝酸至 16.00 g, 配制钾浓度为 0.1、1.5、2.5、3.5、4.5、5.5 $\mu\text{g}/\text{g}$, 钴浓度均为 0.1 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的标准溶液。

1.3 SRM909b I 复溶程序 分析时按说明书要求放置平衡至室温, 轻敲样品瓶, 确保所有冻干物都位于安瓿的底部。小心移去金属封口和橡胶塞, 置于天平上调零, 用称量法准确加入去离子水, 按室内温度去离子水的密度称量后旋动样品瓶 3 次, 静置 10 min。轻轻旋动混匀内容物, 静置 30 min, 再次旋动, 静置 10 min, 最后颠倒 10 次样品瓶。

1.4 RELA 比对样品复溶程序 放置平衡至室温, 小心打开样品瓶, 准确加入 5 mL 去离子水后, 盖上瓶盖, 于室温避光静置 30 min。小心摇动样品瓶使血清完全溶解, 避免产生泡沫。溶解后待用血清保存在 4 ℃ 冰箱中, 长期不用的血清于 -20 ℃ 冷藏。

1.5 样本测定程序 将钴元素作为内标加入待测样本, 1% 硝酸将其稀释 100 倍, 选择和优化 ICP-MS 分析条件后进行测定。测定比对样本前先测定 SRM909b I 以保证测定结果的准确性, 测定结果要求在标示值土不确定度之内。比对样本测定 3 批, 每批测定 4 次, 以考察分析的批内和批间精密度及总不确定度。

1.6 不确定度的评估 包括 A 类不确定度即重复测量引起的不确定度; B 类不确定度主要包括试剂配制过程(即称量、标准溶液等)中的不确定度等。根据 QAUM 2012 计算扩展不确定度。

1.7 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析。

2 结 果

2.1 SRM909b I 及比对样本的测定结果 主要统计指标有均值(\bar{x})、变异系数、不确定度、SRM909b I 测定值与认定值相对偏差及比对样本测定值与总均值的相对偏差, 结果见表 1。SRM909b I 测定值均落在标示值土不确定度范围内, 测定偏差在允许范围。

表 1 SRM909b I 及比对样本的测定结果

项目	均值 (mmol/L)	变异系数 (%)	不确定度 (mmol/L)	bias (%)
SRM909b- I	3.43	0.37	0.036	0.18
样本 A	4.08	0.18	0.033	0.87
样本 B	2.86	0.23	0.025	0

2.2 国际比对样本测定回报结果 IFCC 将各参考实验室上报的比对样本测定结果汇总, 回报给各实验室。各实验室的测定结果、不确定度和分析方法见表 2, 其中德国共有 3 家实验室参加, 其他国家各有 1 家实验室参加。为了更直观比较, 笔者将各实验室测定比对样本 A、B 的结果绘制成比对结果分布图, 见图 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。从 IFCC 回报结果 Youden 图中也可以看到本实验室结果与国际 7 家参考实验室结果的比较见图 3(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

表 2 各国比对血清 KS 水平 A 和 B 测定结果

参与实验室	测定结果(A)(mmol/L)	扩展不确定度(mmol/L)	测定结果(B)(mmol/L)	扩展不确定度(mmol/L)	分析方法
MH(德国)	3.992	0.060	2.800	0.047	ICP-OES
PT(德国)	4.032	0.010	2.856	0.006	Ion chromatography
DR(意大利)	4.060	0.160	2.870	0.110	FES
ReCCS(日本)	4.029	0.015	2.875	0.011	FES
CHW(美国)	3.950	0.140	2.770	0.120	FES
Ie. V. (德国)	4.028	0.040	2.862	0.029	FES
CYH(中国)	4.078	0.033	2.860	0.025	ICP-MS

3 讨 论

同位素稀释质谱法同时具有质谱分析的高度特异性和同位素稀释的高度精密性^[10], 是临床检验参考方法的最好选择^[11-12]。同位素稀释质谱法中标准溶液的制备和内标的添加过程是影响结果准确性和不确定度的主要因素, 内标的加入用来校正质量歧视效应和信号的漂移。为保证测量结果的准确性, 本研究采用重量法配制标准溶液和内标溶液, 保持所有容器的洁净, 保证操作环境无污染。室内条件控制在温度 20~25 ℃, 湿度 20%~50%。

测定前进行仪器参数条件优化的同时考察仪器的稳定性, 保证仪器处于最佳工作状态。为了保证漂移及时在线性, 每分析 3 个标本后用校准曲线重新校正一次。冻干品复溶的严格控制也是保证结果准确的前提, 因此笔者制定了方法中所描述的详细的复溶程序。

本次国际比对中, 除德国汉诺威医学院使用电感耦合等离子体发射光谱法(ICP-OES)法, 德国工程物理研究所使用离子色谱(IC)法以及我国使用 ICP-MS 法^[13-21], 其他实验室均使用火焰原子发射光谱法(FES)法。根据比对结果, 我国和德国工程物理研究所、意大利诊断研究所、日本检查医学标准物质机构以及德国医学实验室的结果相近, 德国汉诺威医学院和美国威斯康辛州儿童医院的测定值离群偏高, 未计人总均值计算。5 家实验室测定比对样本 A、B 两水平的平均值分别为 4.045 mmol/L 和 2.86 mmol/L。用于准确度测定的 SRM909b I 认定值为 (3.424 ± 0.025) mmol/L, 本室测定值均落在此范围内, 比对样本 A、B 两水平的测定结果分别为 (4.08 ± 0.033) mmol/L, (2.86 ± 0.025) mmol/L, 与平均值相比偏倚分别为 0.87% 和 0, 在规定的“等效限” $\pm 2\%$ 范围内。测量不确定度仅次于德国工程物理研究所和日本检查医学标准物质机构, 取

得了较好的成绩。总之,根据各国实验室的回报结果,多数实验室的比对结果令人满意,达到了预期的效果。对于德国和美国两家未纳入统计和结果分析中的实验室,需从实验条件等方面分析原因。

通过参加国际比对,证明了实验室的分析检测能力,同时进一步验证了建立的血清钾电感耦合等离子体质谱钴内标法准确、可靠,达到国际参考方法的水平。通过建立必要的临床检验参考系统,充分利用好国际比对这个平台,进一步推动我国临床检验标准化工作的顺利发展。

参考文献

- [1] Thienpont LM, Van Uytfanghe K, De Leenheer AP. Rererence Mesurement Systems in Clinical Chemistry[J]. Clinical Chimica Acta, 2002, 323(1):73-87.
- [2] 江传慧,陈燕.检验结果互认面临的问题与对策[J].国际检验医学杂志,2009,30(12):1234-1235.
- [3] 蒋胜高.临床化学常规项目检测结果的可比性调查[J].临床检验杂志,2006,24(6):464-465.
- [4] Murphy KE, Long SE, Rearick MS, et al. The accurate determination of potassium and calcium using isotope dilution inductively coupled "cold" plasma mass spectrometry[J]. J Anal At Spectrom, 2002, 17(1):469-477.
- [5] Koumantakis G. Traceability of measurement results [J]. Clin Biochem Rev, 2008, 29:61-66.
- [6] Vesper HW, Thienpont LM. Traceability in laboratory medicine [J]. Clin Chem, 2009, 55(6):1067-1075.
- [7] White GH. Metrological traceability in clinical biochemistry[J]. Ann Clin Biochem, 2011, 48(5):393-409.
- [8] 申子瑜,陈文祥,杨振华.检验医学参考系统研究与应用以及有关问题[J].中华检验医学杂志,2009,32(5):485-488.
- [9] 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):489-493.
- [10] Vogl J, Pritzow W. Isotope dilution mass spectrometry-a primary method of measurement and its role for RM certification [J]. MAPAN, 2010, 25(3):135-164.
- [11] 闫颖,申子瑜,陈文祥.同位素稀释电感耦合等离子体质谱分析及其在临床检验中的应用[J].中华检验医学杂志,2007,30(3):337-338.
- [12] 赵墨田.同位素稀释质谱法特点[J].质谱学报,2004,25(B10):167-168.
- [13] Miyashita S, Groombridge AS, Fujii S, et al. Time-resolved ICP-MS Measurement: a New Method for Elemental and Multiparametric Analysis of Single Cells[J]. Anal Sci, 2014, 30(2):219-224.
- [14] Lin AJ, Yang T, Jiang SY. A rapid and high-precision method for sulfur isotope $\delta(34) S$ determination with a multiple-collector inductively coupled plasma mass spectrometer: matrix effect correction and applications for water samples without chemical purification[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2014, 28(7):750-756.
- [15] El-Khatib AH, Esteban-Fernández D, Linscheid MW. Inductively coupled plasma mass spectrometry-based method for the specific quantification of sulfenic acid in peptides and proteins [J]. Anal Chem, 2014, 86(4):1943-1948.
- [16] Liu HC, You CF, Cai WJ, et al. Precise determination of seawater calcium using isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry[J]. Analyst, 2014, 139(4):734-741.
- [17] Laborda F, Bolea E, Jiménez-Lamana J. Single particle inductively coupled plasma mass spectrometry: a powerful tool for nanoanalysis[J]. Anal Chem, 2014, 86(5):2270-2278.
- [18] Komorowicz I, Barałkiewicz D. Arsenic speciation in water by high-performance liquid chromatography/inductively coupled plasma mass spectrometry-method validation and uncertainty estimation[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2014, 28(2):159-168.
- [19] Amais RS, Long SE, Nóbrega JA, et al. Determination of trace sulfur in biodiesel and diesel standard reference materials by isotope dilution sector field inductively coupled plasma mass spectrometry[J]. Anal Chim Acta, 2014, 806(1):91-96.
- [20] Julshamn K, Maage A, Norli HS, et al. Determination of arsenic, cadmium, mercury, and lead in foods by pressure digestion and inductively coupled plasma/ mass spectrometry: first action 2013.06[J]. J AOAC Int, 2013, 96(5):1101-1102.
- [21] Vanhoe H, Vandecasteele C, Versieck J, et al. Determination of iron, cobalt, copper, zinc, rubidium, molybdenum, and cesium in human serum by inductively coupled plasma mass spectrometry[J]. Anal Chem, 1989, 61(17):1851-1857.

(收稿日期:2013-11-26)

统计资料类型

统计资料共有三种类型:计量资料、计数资料和等级资料。按变量值性质可将统计资料分为定量资料和定性资料。

定量资料又称计量资料,指通过度量衡的方法,测量每一个观察单位的某项研究指标的量的大小,得到的一系列数据资料,其特点为具有度量衡单位、多为连续性资料、可通过测量得到,如身高、红细胞计数、某一物质在人体内的浓度等有一定单位的资料。

定性资料分为计数资料和等级资料。计数资料为将全体观测单位(受试对象)按某种性质或特征分组,然后分别清点各组观察单位(受试对象)的个数,其特点是无度量衡单位,多为间断性资料,如某研究根据患者性别将受试对象分为男性组和女性组,男性组有 72 例,女性组有 70 例,即为计数资料。等级资料是介于计量资料和计数资料之间的一种资料,可通过半定量的方法测量,其特点是每一个观察单位(受试对象)没有确切值,各组之间仅有性质上的差别或程度上的不同,如根据某种药物的治疗效果,将患者分为治愈、好转、无效或死亡。