

血铅检测实验条件规范化的探索

马东礼, 黄宝兴, 陈虹宇, 王荣君

[摘要]目的:建立规范化的血铅检测实验条件。方法:血铅浓度的检测采用钨舟无焰原子吸收光谱法。按照 NCCLS 及卫生部血铅检测技术规范的要求,进行不精密度、不准确度、方法检测线、定量检测线、可报告范围、交叉污染率等性能评价。结果:血铅含量与吸光度值的相关系数 $r=0.999\ 9(t=103.06, P<0.01)$,不精密度、不准确度、方法检测线、定量检测线符合要求,血铅浓度在 $<298\ \mu\text{g/L}$ 的范围内可准确报告定量结果,平均交叉污染率为 $0.378\% \sim 0.394\%$ 。结论:建立的实验条件稳定、可重复,具有临床推广价值。

[关键词] 铅;诊断,实验室;规范化

[中国图书资料分类法分类号] R 995;R 446

[文献标识码] A

Study on establishment of standardized measuring method for blood lead

MA Dong-li, HUANG Bao-xin, CHEN Hong-yu, WANG Rong-jun

(Department of Clinical Laboratories, Shenzhen Children's Hospital Medical Lab, Shenzhen Guangdong 518026, China)

[Abstract] Objective: To establish standardized measuring method for blood lead. Methods: Tungsren-ship atomic absorption spectrophotometry (GFAAS) was used to measuring blood lead level. According to the standard and regulation for blood lead detection from NCCLS and bureau of health, following performances were evaluated: imprecision, inaccuracy, method checking line, quantitative checking line, reportable range, cross contamination etc. Results: The blood lead level was highly consistent with adsorption value, the coefficient $r=0.999\ 9(t=103.06, P<0.01)$; the imprecision, inaccuracy, methods test line and quantitative test line all meet the clinical need. The quantitative data could be provided when the blood lead level below $298\ \mu\text{g/L}$. Average cross contamination rates were $0.378\% \sim 0.394\%$. Experiment result fulfilled all demand for performance evaluation. Conclusions: Successfully establish measurement protocol with stable, repeatable and significant clinical development value.

[Key words] lead; diagnosis, laboratory; standardized

随着人类工业化进程的加快,铅的使用日益广泛,铅及其化合物以粉尘、烟雾、气溶胶等形式存在于空气中,经消化道、呼吸道、损伤的皮肤进入人体,致神经、造血、消化、运动等系统功能障碍^[1]。因此,铅中毒的诊断与防治成为人类几十年来重要的医学课题。获得准确的检验数据是预防与治疗的前提。铅是痕量元素,对仪器的精密性、准确度有着很高的要求,由于铅在生物圈内无处不在,血铅检测各环节避免铅污染是巨大的挑战。大量的血铅临床检测和流行病学调查资料因为检测体系的低重复性而鲜有价值。本文根据 NCCLS 及《血铅临床检验技术规范》^[2]的要求,经过长期探索,不断优化规范血铅检测体系,获得满意效果,现作报道。

1 材料与方 法

1.1 仪器校准曲线的制备 取厂家提供的 0、52、104、203、298 $\mu\text{g/L}$ 等 5 个浓度的校准液,做 3 次重复试验,设置空白对照,本文出现的吸光度值均为减

去空白对照后的吸光度值(A),分别为 0.005、0.025、0.048、0.091、0.132。

1.2 不精密度试验 根据 NCCLS 1999 年版《EP-5》文件,设计精密性评价方法。取 2 个样本,每天做 2 个批次 2 重复试验,共做 20 天,取得 40 对 80 个数据。

1.3 不准确度试验 由于血铅浓度检测目前尚无权威机构推荐参考方法,无法进行比对实验,本文按照《血铅临床检验技术规范》的要求,设计准确度评价方法。取低值 GBW(E) 090033(标准值 51 $\mu\text{g/L}$)、高值 GBW(E) 090034(标准值 298 $\mu\text{g/L}$) 2 个标准样品,连续测定 10 天,2 次重复试验。

1.4 方法检测线 使用厂家提供的系列校准品中的“零标液”作为空白,连续测定 5 天,4 次重复试验,得到 20 个数据。

1.5 可报告范围 取 GBW(E) 090036(标准值 298 $\mu\text{g/L}$) 标准品与“零标液”按比例稀释得到系列浓度 0、5.2、10.4、13.26、52、104、203、298 $\mu\text{g/L}$ 等 9 个浓度,做 4 次重复试验^[3],吸光度(A)均值分别为 0.005、0.006、0.008、0.010、0.014、0.025、0.048、0.090、0.132。

[收稿日期] 2008-07-01

[作者单位] 广东省深圳市儿童医院 检验科,518026

[作者简介] 马东礼(1967-),男,硕士,硕士生导师,副主任技师。

1.6 交叉污染率 根据中华人民共和国行业标准《生化分析仪》和《生化分析仪通用技术要求》中的交叉污染试验方法,取 GBW(E) 090033(标准值 51 $\mu\text{g/L}$)、GBW(E) 090034(标准值 298 $\mu\text{g/L}$) 2 个标准样品,按照低值-高值-低值-高值-低值-高值的顺序,连续 3 次重复试验。测定结果(A)分别为 51、56、52、290、312、327、54、49、58、310、318、312、49、47、47 $\mu\text{g/L}$ 。

1.7 统计学方法 采用 t 检验、直线相关与回归分析。

2 结果

2.1 血铅含量与吸光度值关系 根据校准曲线的 3 重复试验结果,计算得血铅含量与吸光度值的相关系数 $r = 0.999\ 9$ ($t = 103.06$, $P < 0.01$), 回归方程: $\hat{Y} = 0.003\ 8 + 0.000\ 4X$ 。即校准曲线的血铅含量与吸光度值高度相关,回归方程具有统计学意义。

2.2 不精密度试验结果 低值的均值、标准差分别为: $\bar{x}_{\text{低值}} = 51.15\ \mu\text{g/L}$, $s_{\text{批内}} = 1.35\ \mu\text{g/L}$, $s_{\text{批间}} = 3.83\ \mu\text{g/L}$, $s_{\text{天间}} = 2.89\ \mu\text{g/L}$, $s_{\text{总}} = 3.93\ \mu\text{g/L}$ 。 $s_{\text{总}}$ 小于 GBW(E)090033 允许的标准差 11 $\mu\text{g/L}$; 高值的均值、标准差分别为: $\bar{x}_{\text{高值}} = 294.58\ \mu\text{g/L}$, $s_{\text{批内}} = 5.57\ \mu\text{g/L}$, $s_{\text{批间}} = 7.56\ \mu\text{g/L}$, $s_{\text{天间}} = 9.30\ \mu\text{g/L}$, $s_{\text{总}} = 13.21\ \mu\text{g/L}$ 。 $s_{\text{总}}$ 小于 GBW(E)090036 允许的标准差 27 $\mu\text{g/L}$ 。

2.3 不准确度试验结果 $\bar{x}_{\text{低值}} \pm s_{\text{低值}} = 51.15 \pm 3.70\ \mu\text{g/L}$, GBW(E)090033 的 $\bar{x}_{\text{低值}} \pm \delta_{\text{低值}} = 51 \pm 11\ \mu\text{g/L}$; $\bar{x}_{\text{高值}} \pm s_{\text{高值}} = 294.58 \pm 12.19\ \mu\text{g/L}$, GBW(E)090036 的 $\bar{x}_{\text{高值}} \pm \delta_{\text{高值}} = 298 \pm 27\ \mu\text{g/L}$, 差异均无统计学意义 ($t_{\text{低值}} = 0.18$, $P_{\text{低值}} > 0.05$; $t_{\text{高值}} = 1.25$, $P_{\text{高值}} > 0.05$)。

2.4 方法检测线 “零号标液” 20 个检测值的均值 $\bar{x} = 0.85\ \mu\text{g/L}$, 标准差 $S = 0.466\ \mu\text{g/L}$ 。 $\bar{x} + 3s = 2.25\ \mu\text{g/L}$, $\bar{x} + 10s = 5.51\ \mu\text{g/L}$, 分别小于血铅临床检验技术规范要求的 6 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$, 即我们确定的方法检测线、定量检测线符合部颁标准要求。

2.5 可报告范围 血铅含量与吸光度值相关系数 $r = 0.999\ 9$ ($t = 153.37$, $P < 0.01$), 回归方程: $\hat{Y} = 0.003\ 7 + 0.000\ 4X$ 。回归方程具有统计学意义, 即血铅浓度在 $< 298\ \mu\text{g/L}$ 的范围内可准确报告定量结果。

2.6 交叉污染率 交叉污染率试验的 15 个数据编号为 a1、a2、a3、b1、b2、b3、a4、a5、a6、b4、b5、b6、a7、a8、a9, 根据交叉污染率公式计算: 高对低 = (a7 -

a9)/(b6 - a9) = (49 - 47)/(312 - 47) = 0.755%; 低对高 = (b6 - b4)/(b6 - a6) = (312 - 310)/(312 - 58) = 0.787%。平均交叉污染率为 0.378% ~ 0.394%。

3 讨论

一个完整的检测系统由于受到仪器、试剂、质控物、耗材、操作、环境等诸多因素的影响, 而处于动态的变化之中。因此, 动态监控, 实时评价仪器性能已经成为保证检验质量的重要手段。我们根据 NCCLS 及《血铅临床检验技术规范》的要求, 精心设计了不精密度、不准确度、方法检测线、定量检测线、可报告范围、交叉污染率等试验方法, 对大量的试验数据进行分析、统计、检验, 各项参数指标显示检测体系状态良好, 保证了检验报告及流行病学调查的质量。

医学检验工作重心已由常规操作转向质量控制。铅是痕量元素, 在生物圈内无处不在, 污染难以避免。因此, 质量控制工作尤其重要。以下三个方面有助于保证常规工作的质量: (1) 参加卫生部血铅室间质评, 确保血铅检测的准确度; (2) 每日做高、中、低三水平质控, 把不精密度控制在卫生部部颁标准以内; (3) 测 10 个临床标本以后定 1 次标, 我们在工作中发现, 同一标本连续测 10 次以上, 吸光度值会进行性下降; (4) 每半年评价 1 次方法检测线、定量检测线、可报告范围, 监测整个系统的稳定性。

如何做好钨舟无焰原子吸收光谱法测血铅, 我们体会: (1) 仪器、试剂、定标液为同一厂家产品, 减少不必要的系统误差; (2) 严格控制污染, 进样器、样品、标准品不要长时间暴露于空气中, 采血器、试管应经过无铅处理, 采血部位用 0.2% 硝酸、纯水、碘酒、乙醇清洁消毒; (3) 保护气氩气流量控制 2.5 L/min, 太高会影响原子化效果, 太低会产生污染; (4) 钨舟的位置要居中, 高度应在光路下三分之一处, 这样可保证原子化的铅蒸汽最大限度通过光路。钨舟使用时间不可太久, 一般 200 次左右就会出现积碳现象, 影响加样的准确性。

[参 考 文 献]

- [1] 颜崇准, 吴胜虎, 沈晓明, 等. 上海市推广使用无铅汽油对儿童血铅水平影响的追踪调查[J]. 中华流行病学杂志, 2002, 23(3): 172-174.
- [2] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜主编. 全国临床检验操作规程[M]. 第 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 402-405.
- [3] 冯仁丰主编. 临床检验质量管理技术基础[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2003: 66-67.