

质谱技术在临床微量元素检测中的应用共识

(中国医师协会检验医师分会临床质谱检验医学专业委员会)



扫一扫下载全文

用于临床微量元素检测的质谱技术涉及多种质谱类型。按离子源分类,可分为辉光放电质谱、微波等离子体质谱和电感耦合等离子体质谱(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)。按质量分析器分类,可分为四极杆、扇形磁场和飞行时间等多种类型。目前,临床应用最广泛的是 ICP-MS。ICP-MS 是一种将电感耦合等离子体的高温电离与四级杆的快速筛选扫描相结合而形成的检测元素和同位素的分析技术,具有敏感性高、动态线性范围宽、分析速度快、样本用量少等优点,可在短时间内准确检测样本中的多种元素。中国医师协会检验医师分会临床质谱检验医学专业委员会结合目前已公布的质谱技术标准、相关指南、文献及实际操作经验,制定本共识,重点阐述质谱技术在临床微量元素检测应用中对人员、环境、仪器、试剂、耗材、检测规程、方法性能评估及质量控制的要求,为临床实验室采用质谱技术开展微量元素检测提供基本指导。

1 对人员的要求

实验室应将工作人员资质要求文件化,该资质要求应能反映工作人员与其所承担的工作相适应的教育经历、培训经历、工作经验和操作技能^[1]。

建议配备具有分析化学、卫生检验或临床检验等相关教育背景和工作经历的研发人员和经过培训的操作人员。操作人员在上岗前需经系统性的理论和操作培训,并通过相应的知识技能考核,证明其具备与工作相关的理论知识和操作能力^[2]。

2 对环境的要求

2.1 对场地空间的要求

质谱实验室的场地空间按功能划分一般可包括质谱仪器区、辅助设备存放区、气体存放区、样本处理区和数据处理区。需综合考虑检

测项目要求和仪器厂商的要求,配备足够的工作场地。质谱仪器区的环境应洁净、防尘、无污染源、防潮、防震、弱磁场,且仪器四周应留出适当空间便于日常操作、定期维护保养和检修;辅助设备存放区主要用于存放机械泵、冷却循环水机及不间断电源等辅助设备,此空间需考虑隔音、通风及控温设计;气体存放区需根据存放气体类型配置安全防护设施,如使用氢气等易燃易爆气体时需安装漏气警报装置,使用氩气、氮气等窒息性气体时需保证气体存放区的空气流通;样本前处理区及用于试剂存放、玻璃器皿洗涤、纯水制备的区域需与使用有机溶剂等的区域隔离,避免污染;数据处理区主要用于存放计算机,供技术人员进行数据处理和报告发放,实验室可根据实际场地情况进行选配。

2.2 对空气洁净度和排风的要求

微量元素检测易受空气粉尘颗粒的污染而影响检测结果,因此实验室空间需防尘、防震,保证洁净。需评估环境洁净度对检测项目的影响程度,必要时配备可净化实验室空气的硬件设施。如前处理区排配置可局部防尘的实验台,空调系统出风口安装空气过滤器,窗户安装防尘网。样本处理区、辅助设备存放区和质谱仪器区需安装通风系统,进行通风换气,排放热气和废气,连接质谱仪的排风出口应设计有预防雨水倒灌的构造,质谱仪与排风管接口处应设计有预防冷凝水灌入的构造。

2.3 对温度和湿度的要求

实验室需严格控制环境温度与湿度,确保仪器处于良好的运行状态。质谱仪器区的温度和湿度可根据仪器厂商的要求进行控制,也需结合地域特点配备控制温度和湿度的设备,如气候潮湿的地区配备抽湿机,气候干燥的地区配备增湿机。一般仪器运行的适宜温度为 15~30℃,日常使用建议控制在 20~25℃,温

度波动变化 $<2\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{h}$ 。湿度控制在20%~80%。

2.4 对气体要求

不同品牌的质谱仪所需的气体类型不同, 实验室应根据仪器厂家要求配备供气系统, 并确保供气安全。常用气体包括氦气、氩气、氢气和氮气等, 气体纯度一般要求在99.999%以上。必要时, 可配备气体净化柱以保障气体纯度。

2.5 电源要求

为保证仪器检测性能的稳定和可靠, 建议使用具有稳定电压的不间断电源, 负载总电流、插座类型、地线等应符合用电安全和仪器厂商的安装要求。

2.6 生物和化学安全要求

实验室应安装紧急冲淋装置、危险化学品应急处理箱、试剂柜、通风橱等生物安全防护设施。实验所用的危险化学品, 应符合《危险化学品安全管理条例》^[3]和《医疗机构危险化学品安全管理规范》^[4]等要求。实验室需编写相关生物和化学安全操作作业指导书、突发事件应急预案, 规范处理检测过程中所产生的气态、液态或固态危险废弃物, 如强酸、强碱、高浓度有毒重金属溶液、生物样本, 并对技术人员进行生物安全和化学品危害、化学品使用以及突发事件处理的相关培训。

实验室设计以安全、实用、经济为原则, 满足生物和化学安全防护的要求, 满足国家法律法规和相关标准的要求^[5]。

3 对仪器的要求

3.1 质谱仪的选择

质谱仪按照样本引入系统、离子源、质量分析器等模块的不同, 存在多种组合选择。实验室可根据具体检测项目要求(敏感性、基质干扰)、检测通量以及厂商的建议, 进行合理选配。

3.2 质谱仪的性能测试

质谱仪投入使用前需通过仪器性能要求测试, 主要包括背景噪声、检出限(limit of detection, LOD)、精密度、质量轴、分辨率、双电荷和氧化物等。实验室应制定定期校准和期间核查计划, 保证仪器的检测性能良好。每次开始检测前, 需重新确认关键性能参数(灵敏度、稳定性、分辨率、双电荷和氧化物等)是否满足要求。

3.3 质谱仪的维护保养和故障处理

实验室需结合仪器厂商要求, 根据实际使用情况, 制定仪器维护保养的周期性计划。进行维

护保养的部件需包括影响质谱仪使用性能的关键组成模块, 如进样系统(进样管、矩管和采样锥等)、透镜组(提取、偏转和聚焦透镜等)和辅助设备(机械泵、冷却循环水机)等。

质谱仪常见故障主要包括无信号、灵敏度降低和重现性差等。故障原因主要有进样系统的接头漏气、雾化器堵塞、雾化室积液、矩管积碳和锥尖堵塞等。仪器故障排除后, 需形成完整的故障记录, 并对仪器性能进行评估, 满足要求后, 方可进行样本检测。

3.4 质谱仪管理的基本要求

建议由专人管理质谱仪, 定期进行维护保养、性能核查和档案管理, 并制定相应的仪器操作和维护作业指导书。仪器应贴有相关设备标识, 标明仪器的型号、编号、状态、用途及检查周期等信息。

4 对试剂和耗材的要求

4.1 试剂耗材的选择

实验室应选择通过认证[我国国家食品药品监督管理局(China Food and Drug Administration, CFDA)等]的商品化试剂。若使用自配试剂, 建议硝酸、曲拉通等纯度为优级纯及以上, 实验用水为高纯水($\geq 18.0\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$, $25\text{ }^{\circ}\text{C}$)^[6], 标准品优先选择国家一级标准物质。耗材的选择应首先保证对实验过程和实验结果无干扰, 且质量可靠、货源稳定。

4.2 试剂、耗材的日常使用

应按说明书及实验室实际要求使用试剂。若使用自配试剂, 需对自配的试剂(调谐溶液、内标溶液、标准溶液等)进行稳定性验证。真空采血管、实验试管和移液吸头等耗材需抽取适当数量进行空白检测, 一般要求空白值低于LOD^[7]。

5 对检测流程的要求

5.1 分析前阶段

分析前阶段主要包括样本的采集、运送和实验室内传递等。分析前阶段的质量控制与检测结果的准确性密切相关。微量元素检测易受到污染, 分析前需做好防污染的准备^[8], 避免污染。如采集血液样本时, 禁止在采血室使用风扇降温, 应使用经本底测试合格的采血管; 采血人员不可佩戴涂有滑石粉的乳胶手套; 不可使用碘伏消毒, 同时应彻底清洁穿刺部位皮肤。

5.2 分析中阶段

分析中阶段主要包括样本状态判别、样本前处理、样本检测以及数据处理等。

5.2.1 样本状态判别 实验室需制定样本状态判别流程及不合格样本的拒收标准。不合格样本包括血液凝集的全血样本、溶血的血清样本和不合格容器送检的尿液样本等。

5.2.2 样本前处理 用于微量元素检测的常见样本前处理方法包括稀释法、高温干灰化法、常压湿消解法和微波消解法等。全血、血清或尿液等溶液状样本一般采用稀释法进行样本前处理（建议全血样本采用20倍及以上倍数稀释，血清样本采用10倍及以上倍数稀释，尿液样本采用5倍及以上倍数稀释）。头发、指甲和脏器生物组织样本采用消解法进行前处理^[9]。

5.2.3 样本检测 样本检测前需确认仪器状态是否满足要求，一般可通过系统适用性测试（system suitability test, SST）进行确认。定量检测的序列顺序一般为试剂空白、校准曲线、试剂空白、质控品、样本、质控品，同时采用在线内标进行校正和监控，所选择的内标元素的质量数应尽量与被测元素相近，内标回收率建议控制在80%~120%。

5.2.4 数据处理 查看试剂空白响应值、校准曲线线性（建议 $r \geq 0.999$ ）、质谱扫描响应信号的相对标准偏差（一般扫描次数为2~3次）、内标回收率和质控结果等是否满足要求，若满足，则生成数据文件，将检测结果录入实验室信息处理系统。

5.3 分析后阶段

分析后阶段包括结果复核、临床样本处置以及结果报告等。

5.3.1 结果复核 对质控结果、检测结果、临床诊断及历史检测记录等进行复核。对于异常结果，需根据各实验室制定的相关标准操作规程进行复测等处理。

5.3.2 临床样本处置 根据检测项目要求，制定样本保留期限及处置流程。

5.3.3 结果报告 实验室应建立临床结果报告程序，明确结果异常时的报告注释内容及方式、需联系临床的特殊情况及危急值报告流程。

5.3.4 其他信息 在日常检测工作中，应及时、准确、如实地记录操作人员、仪器、试剂及检测数据等相关信息，做好环境温度和湿度、冰箱温度、试剂使用或配制、仪器使用和维护、日常检测样本工作清单、异常样本等的记录，以便溯源。

6 方法性能评估

目前，临床微量元素测定的质谱方法

主要有行业标准检测方法及实验室自建方法（laboratory developed test, LDT）。检测系统用于临床样本检测前需进行全面的方法性能评估，并通过客观证据（性能特征）证实其满足检测预期用途的特定要求。检验程序的性能特征包括：正确度、精密度、分析特异性（含干扰物）、检出限和定量限、线性范围（可报告范围）等^[10]。检测系统经综合评估满足要求后方可投入使用。当检测系统发生改变时，如设备配置升级、试剂组分改变、前处理方法改变等，需重新进行方法性能评估。在项目开展后，需根据实际情况定期进行方法学性能验证（建议每年至少1次），以确保检测系统整体性能的稳定。

6.1 正确度

正确度验证可通过偏移评估（有证标准物质）、回收试验、与参考方法比对、参加能力验证[中国合格评定国家认可委员会（China National Accreditation Service for Conformity Assessment, CNAS）认可的能力验证（proficiency test, PT）计划]和比对试验（CNAS认可的实验室）等方式^[9]进行，如采取比对试验方法，建议使用不少于20例的临床样本，被测物浓度在测量区间内均匀分布。

6.2 精密度

精密度验证应包括重复性和中间精密度。可采用基质与实际待测样本一致或相似的样本，如新鲜或冻存的样本、质控品。应至少评估2个水平的样本，所选样本的被测物浓度应在测量区间内，至少有1个样本的被测物浓度在医学决定水平附近。（1）重复性：对样本进行至少10次重复测定，计算均值（ \bar{x} ）、标准差（ s ）和变异系数（coefficient of variation, CV），一般要求 $CV \leq 1/4$ 允许总误差（allowable total error, TEa）。（2）中间精密度：每天检测1个分析批次，每批次检测2个水平的样本，每个样本重复检测3~5次，连续检测5 d，计算 \bar{x} 、 s 和CV，一般要求 $CV \leq 1/3$ TEa。在每一批次的检测中应同时检测质控品。

6.3 分析特异性

由于ICP-MS技术存在质谱干扰（同量异位素、多原子离子和双电荷干扰等）和非质谱干扰（基质干扰），因此在检测方法建立过程中需评估试剂、样本基质、质谱技术原理等可能存在的干扰及影响程度。一般采用碰撞/反应池技术、选择无干扰同位素等方式来降低质谱干扰，采用内/外标校正和基质匹配（所选基质建

议采用混合样本,如混合尿)的标准曲线法来降低基质干扰,日常检测中可采用加标回收、测定参考物质、分析质控品等方式评价干扰的抑制效果。

内标选择建议:轻质量数内标元素为锂(质量数为6)、铕(质量数为45),中质量数内标元素为锆(质量数为72)、钇(质量数为89)、铈(质量数为103)、铟(质量数为115)、碲(质量数为126),重质量数内标元素为镱(质量数为175)、铪(质量数为185)、铋(质量数为209)。

6.4 LOD和定量限(limit of quantitation, LOQ)^[11-12]

6.4.1 LOD 采用空白标准偏差法评估LOD。通过检测试剂空白来确定LOD,测定不少于10次的试剂空白,计算出检测结果的 s , $LOD=3s$ 。

6.4.2 LOQ 使用空白标准偏差法评估LOQ。与LOD类似,测定不少于10次的试剂空白,计算出检测结果的 s , $LOQ=10s$ 或 $LOQ=3LOD$ 。

在检测方法的LOD和LOQ无法满足临床使用要求时,可尝试更换合适的同位素、增加信号采集积分时间、降低耗材本底或提升仪器敏感性等措施进行优化。

6.5 线性范围与临床可报告范围

6.5.1 线性范围 采用校准曲线法定量,一般要求包括空白在内的校准曲线点不少于6个,覆盖目标浓度的50%~150%,线性回归方程的 $r \geq 0.999$,线性范围为“定量限~校准曲线最高浓度点”。

6.5.2 临床可报告范围 定量分析方法的报告范围是临床实验室发出检测报告的依据之一,可报告范围为“可报告低限(定量下限)~可报告高限(定量上限×样本最大稀释倍数)”。

6.6 携带污染

存在共用进样针、进样管等可能导致携带污染的检测系统需定期评估携带污染,建议每年评估1次。

6.6.1 评估方法1 将高值、低值样本按1(高值)、2(高值)、3(低值)、4(低值)、5(低值)的顺序进行测定,根据公式计算携带污染率。 $携带污染率 = \frac{3(低值) - 5(低值)}{2(高值) - 5(低值)} \times 100\%$ 。

6.6.2 评估方法2 将高值、低值样本按1(低值)、2(低值)、3(低值)、4(高值)、5(高值)、6(低值)、7(高值)、8(高值)、9(低值)、10(低值)、11(低值)、

12(低值)、13(高值)、14(高值)、15(低值)、16(高值)、17(高值)、18(低值)、19(高值)、20(高值)、21(低值)的顺序进行测定,求出所有低值→低值样本的 s_1 、 \bar{x}_1 (即第2、3、10、11、12号样本)和所有高值→低值样本的 \bar{x}_2 (即第6、9、15、18、21号样本),判断标准为: $\bar{x}_2 - \bar{x}_1 < 3s_1$ 。

6.7 参考区间

6.7.1 参考区间验证 通过查找国家标准或权威机构建议的参考区间,再根据人群地域特性,从当地人群中募集20名健康个体进行测定,将20个测定值与需验证的参考区间进行比对,要求落在参考区间外的测定值不超过2个。

6.7.2 参考区间建立 当需自行建立参考区间时,需募集足够数量的参考个体,征得知情同意后,进行参考个体的筛选。筛选参考个体时,应尽可能排除对结果有影响的因素,样本数量至少为120例,若需要分组则每组至少120例^[13],结合项目自身的特性建立检测项目的参考区间。

7 质量控制要求

7.1 室内质控要求^[14]

7.1.1 质控品的选择 选择与待测样本基质一致或相似的质控品,其浓度尽量与医学决定水平接近,至少包括高、低2个水平。无商品化质控品选择时,建议采用留样再测、自行配制质控品和加标回收等方式进行室内质控。

7.1.2 质控品测定频率 实验室应根据方法的检测性能确定分析批长度,应在每个分析批次前后检测质控品,以监控该分析批次的可靠性,确保在此区间内检测系统的准确度和精密度的稳定性。

7.1.3 质控框架的建立 在建立质控框架前需确定检测系统相关性能验证指标是否满足要求。在建立质控靶值和质控范围时需要充分考虑典型的检测变异来源,包括操作人员轮换、试剂批号更换及仪器维护等。

7.1.4 质控结果分析 通过质控图及质控规则对质控结果进行分析,识别可能存在的系统偏移或趋势。当质控出现失控现象时,需查找原因,并评估对检测结果的影响,必要时重新检测样本。

7.1.5 质控月度回顾 建议至少每月统计1次室内质控结果,计算 \bar{x} 、 s 和 CV ,对出现的明显趋势或位移变化应分析原因并采取相应的措施。

7.2 室间质评要求

7.2.1 室间质评的选择 实验室需根据实际情

况选择合适的室间质评计划。若检测项目无PT提供者,建议与具备ISO 15189认可资质的实验室进行比对或采用其他替代评估方式^[15],如留样复测、加标回收或检测参考物质等。

7.2.2 室间质评样本的检测 室间质评样本需按临床样本同样的操作流程进行检测。

7.2.3 室间质评结果的评价^[16] 在室间质评结果评价中,当可接受结果 $\geq 80\%$ 时,实验室的检测能力是合格的。若可接受结果 $< 80\%$,则检测能力为不合格,实验室需评估检测过程,查找原因并予以纠正。

8 结语

本共识系统地阐述了质谱技术在临床微量元素检测中涉及到的各个关键环节,明确了具体实施方案及评判标准,可为质谱技术用于临床微量元素检测提供了指导。

执笔:程雅婷(广州金域检验医学中心临床质谱检测中心);曹正(首都医科大学附属北京妇产医院检验科);李水军(上海市徐汇区中心医院中心实验室);沈敏(美康生物科技股份有限公司参考实验室);马志军(首都医科大学附属北京妇产医院检验科);韩连书(上海交通大学医学院附属新华医院上海市儿科医学研究所小儿内分泌遗传科)

审阅、校验:翟燕红(首都医科大学附属北京妇产医院检验科);赵贞(美国Cornell大学医学院病理与检验医学系);张天娇(国家卫生健康委临床检验中心);朱宇宁(浙江大学医学院附属妇产科医院检验科);张钧(浙江大学附属邵逸夫医院检验科);廖志雄(杭州中医院检验科);李惠玲(首都医科大学附属北京朝阳医院毒化实验室);田国力(上海市儿童医院新生儿筛查中心);蒋黎(四川省人民医院检验科);程黎明(华中科技大学同济医学院附属同济医院检验科);赵蓓蓓(广州金域检验医学中心临床质谱检测中心);尹沛源(杭州汉库检验所);杨鹤(美国Quest Diagnostics-Nicholas研究所);苏增留(美国Ameritox检验医学公司);贾继明(北京和合医学诊断工程技术研究院);刘华芬(迪安诊断凯莱谱精准检测公司);李幽然(首都医科大学附属北京妇产医院检验科);万智慧(首都

医科大学附属北京妇产医院检验科)

参考文献

- [1] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-CL02 医学实验室质量和能力认可准则[S]. 北京:中国合格评定国家认可委员会, 2012.
- [2] 中华医学会检验医学分会, 卫生计生委临床检验中心. 液相色谱-质谱临床应用建议[S]. 2017.
- [3] 危险化学品安全管理条例[Z]. 中华人民共和国国务院令 第344号, 2011.
- [4] DB11/T 1578—2018 医疗机构危险化学品安全管理规范[S]. 北京:北京市质量技术监督局, 2018.
- [5] 中华人民共和国卫生部. WS 233—2002 微生物和生物医学实验室生物安全通用准则[S]. 北京:中华人民共和国卫生部, 2002.
- [6] 中华人民共和国卫生部. GB/T 33087—2016 仪器分析用高纯水规格及试验方法[S]. 北京:中华人民共和国卫生部, 2016.
- [7] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会. GBZ/T 295—2017 职业人群生物监测方法[S]. 北京:中华人民共和国卫生和计划生育委员会, 2017.
- [8] 程雅婷, 杨潇明, 文国学, 等. 电感耦合等离子体质谱技术直接测定全血中微量元素的方法及检测过程的质量控制[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(12): 1470-1471.
- [9] 于兆水, 陈海杰, 张雪梅, 等. 微波消解-高分辨电感耦合等离子体质谱测定生物样品中55种元素[J]. 物探化探计算技术, 2014, 36(6): 757-762.
- [10] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL037 临床化学定量检验程序性能验证指南[S]. 北京:中国合格评定国家认可委员会, 2019.
- [11] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会. GB/T 27417—2017 化学分析方法确认与验证指南[S]. 北京:中华人民共和国卫生和计划生育委员会, 2017.
- [12] 中华人民共和国卫生部. 血铅临床检验技术规范[S]. 北京:中华人民共和国卫生部, 2006.
- [13] 中华人民共和国卫生部. WS/T 402—2012 临床实验室检验项目参考区间的制定[S]. 北京:中华人民共和国卫生部, 2012.
- [14] 中华人民共和国卫生部. GB/T 20468—2006 临床实验室定量测定室内质量控制指南[S]. 北京:中华人民共和国卫生部, 2006.
- [15] 中华人民共和国卫生部. WS/T 415—2013 无室间质量评价时实验室检测评估方法[S]. 北京:中华人民共和国卫生部, 2013.
- [16] 中华人民共和国卫生部. GB/T 20470—2006 临床实验室室间质量评价要求[S]. 北京:中华人民共和国卫生部, 2006.

(收稿日期: 2018-06-25)

(本文编辑: 龚晓霖)