

# 日立 7180 全自动生化分析仪项目间交叉污染实验研究

陈 茹, 张 波, 王永新, 梅 杰(安徽省固镇县人民医院 233700)

**【摘要】 目的** 实验观察生化指标检测过程中可能出现测试项目间的交叉污染对日立 7180 全自动生化分析仪使用的影响。**方法** 对 24 个常规生化项目丙氨酸氨基转移酶(ALT)、碱性磷酸酶(AKP)、谷氨酰氨基转移酶(GGT)、总胆汁酸(TBA)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、前清蛋白(PA)、总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)、葡萄糖(GLU)、果糖醇(FTS)、尿酸(UA)、尿素氮(BUN)、肌酐(CRE)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、磷(P)、钙(Ca)、天冬氨酸转氨酶(AST)、胆碱酯酶(CHE)进行交叉污染试验观察。**结果** 24 个项目交叉污染试验结果显示, FTS 施于 CHE、PA 的污染, CHOL、TG 施于 TBA 的污染, HDL-C 施于 TG 的污染均可明显影响其测定结果。**结论** 实际使用全自动生化仪随机组合项目时, 应注意项目位置的特别设置, 某些项目检测数据异常, 应预设清洗程序进一步清洗。对可能引起结果改变的因素具体观察分析, 并采取相应的控制措施, 为临床提供科学、准确的诊疗依据。

**【关键词】** 全自动生化分析仪; 生化检测项目; 交叉污染

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.18.026

中图分类号:R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2010)18-1973-03

The study of the cross-contamination of Hitach 7180 Automatic biochemical Analysis instrument CHEN Ru, ZHANG Bo, WANG Yong-xin, MEI Jie. Guzhen People's Hospital Anhui 233700, China

**【Abstract】 Objective** To study the cross-contamination of Hitach 7180 automatic biochemical analysis instrument. **Methods** Put common biochemistry test onto ALT, AKP, GGT, TBA, LDH, CK, TP, ALB, PA, TBIL, DBIL, GLU, FTS, UA, BUN, CRE, CHOL, TG, HDL-C, LDL-C, P, CA, AST, and CH, at the same time, the cross-contamination of different biochemistry test was measured and analyzed. **Results** Among 24 cross-contamination tests, the test of FTS has significant influence in the test of CHE and PA. CHOL and TG have significant influences on the test of TBA, at the same time, the test of HDL-C has a significant influence on the test of TG. **Conclusion** The cross-contamination result make it clear that some abnormal data came out because of the automatic biochemical analysis instrument's random assessment tests. It is necessary to set up a washing program in advance and change the position of the cross-contamination. Generally speaking, all of the factors influencing the test value should be observed and analyzed. The measures avoiding these factors should be taken rapidly, so that it can provide the clinical doctor with the scientific and precise diagnose and evidence.

**【Key words】** automatic biochemical analysis instrument; biochemistry test; cross-contamination

全自动生化分析仪发展迅速,具有多项目、多样本的处理能力。但随着检测速度的不断提高,由于共用吸样针、试剂针、搅拌棒以及比色杯,当生化仪长期使用致其清洗能力下降、比色杯老化后引起吸附力增加、生化仪内污垢的积聚、测试顺序安排不当,且常规清洗不能有效消除时,就会增加试剂间化学污染的可能性,引起测定结果的重复性和准确性降低。在实际工作中主要表现为某一项目的测定结果一直符合临床要求,一段时间以后测定结果趋高或减低,并且日益明显;而单独测定该项目时测值又合理起来。日常工作中往往是仪器评估没问题,而用户使用时存有污染;质控品和 Westgard 法则不起作用,质控往往在控;而试剂污染具有偶然性,并不是每次都出现。这就导致了判别此类污染的困难性<sup>[1]</sup>。给日常工作带来极大的不便。因此避免试剂干扰对实验室检测系统交叉污染的可能性进行实验性观察及研究变得十分必要。下面通过不同的试验设计与试剂成份的分析来找出试剂携带污染可能带来干扰的情况,进而检出存在交叉污染的检测项目,指导相应的项目调整和交叉污染的避免方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 仪器** HITACHI 7180 全自动生化分析仪。运行状态良好。

**1.1.2 试剂** 上海长征,中生北控,宁波美康,长春汇力等生物技术有限公司生产的 ALT(IFCC), AST(IFCC), ALP(IFCC), GGT(IFCC), TBA(循环酶), LDH(LD-L), CK(NAC), TP(双缩尿), ALB(溴甲酚绿), PA(免疫比浊), TBIL(重氮), DBIL(重氮), GLU(HK), FTS(改良 NBT), UA(尿酸酶), BUN(尿酶速率), CRE(苦味酸), CHOL(COD-PAP), TG(GPO-PAP), HDL-C(选择性抑制), LDL-C(选择性清除), P(直接紫外), Ca(偶氮砷), CHE(硫代丁酰胆碱)。

**1.1.3 标本** 正常新鲜混合血清。由 20 例无黄疸、溶血、脂血的体检者血清混合而成。

### 1.2 方法

**1.2.1 试剂交叉污染试验方法** 实验前先确认制水机水质处于良好状态,然后用无水乙醇清洗试剂针、样本针、搅拌棒,用有效氯清洗清洗机构管道,进行仪器维护后再进行反应槽换水、系统清洗、光度计检查、杯空白检测。(1)交叉污染初试:假设有 3 个项目 A, B, C, 以一混合血清作为标本,按以下顺序测试: C, C, C, C, A, C, B, C, B, B, B, A, B, A, A, A, A。得到的

结果分别为:C1,C2,C3,C4,CA-A,AC-C,CB-B,BC-C,B1,B2,B3,B4,BA-A,AB-B,A1,A2,A3,A4。CA-A:表示C项目对A项目施污染时A项目的测定值,其余表示类同。以A2~A4、B2~B4、C2~C4的3次测定平均值分别作为A、B、C项目无污染时的测定值。受污染项目测定值与无污染测定值比较以百分比偏差表示,大于本实验室根据CLIA'88制定的1/4TEa则支持试剂间交叉污染存在。(2)疑似污染确认:若上述初试验结果C对A有污染,则可进行以下试验进行确认,测定顺序为:C,A,A,A,结果为:C,A1,A2,A3。若(A1/A3×100%)小于95%或大于105%,则强烈支持C对A有携带污染。A1→A3的结果可观察受C污染的程度是否逐渐减轻<sup>[1]</sup>。

**1.2.2 反应杯携带污染实验原理与确认** 日立7180共120个反应杯,杯空白测定顺序为1,42,83,124,5,46,87,128,9,50,91,132,13……看似无序实则有序,并且每次在stand by状态下启动测试都会按此顺序进行。对初试存在交叉污染的项目在用HIALKALI-D进行清洗反应杯、杯空白检测后,以10个测试为一组,如试剂A对B施污染,先测A5次再测B5次,待测试结束仪器处于Stand By状态时,对受污染项目B进行10次测定。如此前5个A测试用过的反应杯视为污染杯,后5个反应杯B测试用过的反应杯为无污染杯。以5次的平均值百分比偏差比较受污染杯测定结果超出本实验室根据CLIS'88制定的1/4TEa以上视为存在反应杯携带污染。

**1.2.3 消除试剂针、搅拌棒、反应杯携带污染的清洗程序设置** 将上述确认为污染的项目,设计增加特殊清洗程序:(1)在特殊清洗程序special wash中设置两个项目间试剂针、搅拌棒用去离子水清洗(water 270 μL),再观察这些项目间的污染是否存在;(2)对设定用水清洗后依然存在交叉污染的项目需再设立碱性清洗液HIALKALI-D(wash1 270 μL)代替去离子水的清洗实验,观察交叉污染是否存在;(3)对反应杯间存在交叉污染的项目,在Utility-Application-Cell Detergent中把wash1改为wash2或wash1wash2。(4)改变反应杯清洗方式后如仍存在反应杯携带污染,可在special wash中设置施污染项目反应杯用water、wash1、wash2清洗,但如此会大大降低仪器的工作效率。

**1.3 统计学方法** 试验数据以 $\bar{x} \pm s$ 和百分比表示。用Excel软件进行数据处理与统计分析。

**2 结 果**

**2.1 试剂针搅拌棒交叉污染初试结果** 见表1。其中X表示受污染项目连续四次测值的后3次平均值,视为无污染测定值。X1表示紧跟施污染项目后的受污染项目测定值。为了便于观察我们以百分比偏差形式表达受污染项目的污染结果。可见FTS对CHE,CHOL、TG对TBA试剂针、搅拌棒携带污染相当严重。

**表 1 交叉污染初试结果**

施污染项目	受污染项目测定百分比偏差[(X1-X)/X*100%]			
	CHE	TBA	TG	PA
FTS	-45%	-	-	13%
UA	-16%	-	-	-
CHOL	-	47%	-	-
TG	-	41%	-	-
HDL	-	-	25%	-
允许变异(%)	7.5%	7.5%	6%	7.5%

注:-表示无数据。

**2.2 交叉污染确认试验结果** 见表2。X为受污染项目单独测定的平均值,X1,X2,X3分别表示紧跟施污染项目后的第1、2、3次测定值。结果显示除UA外,其余各项目与初试结果一致。且由X1到X3污染结果依次减轻到第3次时FTS-PA,CHOL-TBA,TG-TBA,HDL-TG的污染已完全消除,达到临床要求。但第3次(即FTS与CHE间隔两个无污染项目)FTS对CHE的污染依然存在(-11.5%)远大于允许标准。

**表 2 交叉污染确认试验结果**

施污项目/ 受污项目	X	X1	X2	X3	X1/ X(%)	X3/ X(%)	X1/ X3(%)
FTS/CHE	8879	5019	7497	7918	56.5	89.5	63.4
UA/CHE	8879	8221	8540	8421	92.6	94.8	97.6
FTS/PA	258	297	273	265	115.1	102.7	112.1
CHOL/TBA	3.4	4.8	3.6	3.5	141.2	102.9	137.1
TG/TBA	3.4	4.9	3.5	3.5	144.1	102.9	140
HDL/TG	1.28	2.17	1.36	1.29	169.5	100.7	168.2

**2.3 反应杯携带污染结果与消除** 见表3。比较表2和表3可知反应杯携带污染较试剂针搅拌棒要轻。CHOL杯对TBA虽存在轻度污染(大于5%)但已能满足要求(小于7.5%),FTS杯对CHE污染最严重但亦低于10%。基本满足Westgard方法性能决定图的要求<sup>[2]</sup>。

**表 3 反应杯携带污染与消除结果**

施污染杯/受污染项目	FTS/ CHE	CHOL/ TBA	TG/ TBA	FTS/ PA	HDL/ TG
Wash1 清洗偏差(%)	-9%	6%	1%	0%	1%
允许变异(%)	7.5%	7.5%	7.5%	7.5%	6%

**2.4 携带污染消除结果** 见表4。比较表4和表2可知:用水清洗后试剂针搅拌棒的污染程度已明显降低,但果糖胺对胆碱酯酶、三酰甘油对总胆汁酸的污染依然十分严重。改用碱性清洗液清洗后所有交叉污染全部消除。

**表 4 设定试剂针搅拌棒特殊清洗程序后污染结果**

施污染杯/受污染项目	FTS/ CHE	CHOL/ TBA	TG/ TBA	FTS/ PA	HDL/ TG
水洗(X1/X3%)	83.4	104.3	107.5	124.8	106.7
碱性清洗液(X1/X3%)	97.3	100	103	101.5	101.5

**3 讨 论**

全自动生化分析仪交叉污染的存在直接导致仪器测定结果的重复性和准确性降低,检验结果是否准确直接关系到患者的疾病诊断和治疗,结果的可靠性越来越被临床医生、患者及其家属重视。如何有效降低仪器交叉污染的程度保证检测结果的准确性直接关系到仪器的使用寿命。其交叉污染集中表现在样本针、试剂针、搅拌棒和反应杯的携带污染上。解决方法主要有调整试验项目顺序,或者通过增加冲洗次数和启用特殊清洗来避免交叉污染<sup>[1]</sup>。样本针、搅拌棒的携带污染可通过无水乙醇擦洗解决。试剂针、反应杯的污染较难克服。其中以比色杯污染最为严重,因比色杯最难以清洗干净,且在实际工

作中难以判断该比色杯上一测试的项目;试剂针吸量较大,亦难以清洗干净<sup>[1]</sup>。作者通过对日立 7180 交叉污染的研究,在看似无序的测序中找到了一定的规律,成功地克服了于教授所说的难以判断该比色杯上一测试项目的难题。为消除比色杯的交叉污染找到了可行的解决办法。并且经研究发现日立 7180 生化仪比色杯污染较试剂针、搅拌棒污染要轻。这可能是因为大多仪器反应杯设定的是用水清洗,而本实验室所有反应杯均设定 wash1(碱性清洗液)清洗。对试剂间污染携带污染通过设定试剂针反应杯的特殊清洗程序,水清洗可得到基本解决。但果糖胺对胆碱酯酶、三酰甘油对总胆汁酸的污染试剂针要用碱性清洗液清洗后方可消除。反应杯用碱性清洗液清洗后 FTS 对 CHE 的干扰依然存在 9% 但依据常用检验项目决定水平处的分析质量要求基本满足临床需求。研究还发现通过在施污染项目与受污染项目间加入无污染的项目来消除试剂针、搅拌棒污染的方法对污染程度较轻的隔两到三个基本可以消除,但对污染程度较重的 FTS 对 CHE 至少要隔 5 个以上无污染项目方可消除。在交叉污染实验初试中 UA 对 CHE 的疑似污染正是由于位于 UA 之后 CHE 与 FTS 只隔了 2 个无污染项目所致。此法只对测定按一定通道顺序的仪器适用,对于试剂加样是由中控电脑根据最佳工作效率原理分配指令的,仍可能造成施污染试剂和被污染试剂被加注顺序随机变化而发生污染<sup>[3]</sup>。如本科室用于急诊的仪器 BT300,既无固定的加样顺序,也无特殊的清洗程序,只能通过增加冲洗次数来减少污染。对于携带污染最为严重的 FTS 和 CHE 试剂均为长春汇力生物技术公司生产,为此本院联系了公司,希望公司通过调整试剂成分而达到彻底消除污染。

通过交叉污染初试与确认实验研究,本文发现了总胆固醇、三酰甘油对总胆汁酸存在污染,而高密度脂蛋白胆固醇、尿酸对总胆汁酸无污染。与各文献报道的确认 CK 对 TG, CHE 对 TG, CHE 对 CRE, TP 对 D-Bil, ALI 对 IDH 和 AST 对 LDH; HDL-C、LDL-C 对 UA 测定有影响,并不完全一致<sup>[4-6]</sup>。另外以往文献中没有提到过:果糖胺对胆碱酯酶、前清蛋白,高密度胆固醇对三酰甘油的污染试剂针用碱性清洗液清洗可消除,这可能是由于试剂中化学成分复杂,各品种、各厂商的试剂内含物均不同、方法学不同,加之仪器状况的独特性所致。

试剂间污染的原因很多,总体可分为以下几种情况。试剂成分的直接污染:上一测定试剂中含有下一测定所需要测定的物质,直接干扰下一检测的测定结果。本实验研究测定 CHOL 和 TG 试剂中 TBA 具有较高含量。试剂成分参与反应或反应进程相同:上一个试剂中含有的某种试剂成分与下一反应所要测定的底物有作用,因而干扰下一反应的测定结果。上一试剂所引导的反应对下一个项目的反应进程带来间接的干扰,下一项目所测定的是前后两个项目反应的综合作用结果。如高密度脂蛋白胆固醇与三酰甘油测定最后一步反应均是底物与过氧化氢和 4-氨基安替比林在过氧化物酶的作用下生成红紫色、红色色素,并且吸收波长分别为 600、520。故 HDL-C 会干扰 TG 测定结果增高。影响反应条件:上一测试影响下一项目的反应条件如 pH 等,从而改变反应速率。如 FTS 对 CHE 的干扰,果糖胺的 AMP 缓冲液 pH 值高达 10.20 而胆碱

酯酶反应需要弱酸性环境 pH 值 6.0~6.5,因 pH 值的改变对结果造成负干扰。果糖胺对前清蛋白的正干扰,由于试剂说明书检验原理不详,无法探知确切干扰反应步骤,但笔者推测可能是由于果糖胺试剂中的 NBT(氯化硝基氮唑蓝)在前清蛋白的反应进程中具有与叠氮化钠相似的作用加速的反应进程对结果造成正干扰。

对于试剂间交叉污染问题,操作人员应熟练掌握仪器工作原理、程序、性能,依照日立 7180 型全自动生化分析仪的工作程序,测试一个标本的所有试验项目,再测下一个标本的顺序,避免污染的可能。改变项目测试顺序,把受污染项目的通道号调整到施污染项目通道号前面等方法,来避免检测项目间的携带污染,精确安排各项目测定顺序后,不可随意更改<sup>[7]</sup>。留心观察平时异常不稳定项目结果,必要时进行交叉污染实验,判断交叉污染项目及程度。尽量在不影响仪器测定效率的情况下消除污染。对无法消除的污染必要时可通过更换试剂解决。注意仪器的日常维护,在每天关机后用无水乙醇擦洗样本针试剂针和搅拌棒,定期用 5% 的有效氯清洗各清洗槽及清洗机构的废液管道,注意空白杯报警,必要时更换反应杯等部件。日立仪器厂商严格规定比色杯使用 3 个月 after 必须更换新的反应杯<sup>[8]</sup>,而本科室在进行携带污染试验时反应杯的使用已长达半年之久,并无明显携带污染存在。事实证明加强仪器的维护保养可有效提高仪器部件的使用寿命。

综上所述,生化分析仪检测中携带污染问题普遍存在,且相当严重又不尽相同,各实验室应高度重视,对可能引起结果改变的因素具体观察分析,并采取相应的控制措施、科学的解释测定结果,为临床提供科学、准确的诊疗依据。

## 参考文献

- [1] 于嘉屏. 全自动生化分析仪及其试剂间化学污染对检测结果的影响[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(11): 1301-1302.
- [2] 杨友业, 张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 71-72.
- [3] 王传发. 日立 7600 生化分析仪检测血清镁中的试剂交叉污染及其消除措施[J]. 检验医学, 2010, 25(6): 465-467.
- [4] 邓正辉, 张华. 生化试剂对胆汁酸测定的交叉污染及防范措施[J]. 中国实用医药, 2008, 3(10): 55-56.
- [5] 祁宏英, 刘翔. HITACHI 7180A 全自动生化分析仪项目间交叉污染的排除[J]. 医疗装备, 2005, 12: 61-62.
- [6] 雷小平, 曾秀平. 两种试剂对尿酸检测结果的影响[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(3): 234-235.
- [7] 尚晓虹, 胡晓丽. 日立 7600-020 型全自动生化分析仪干扰、交叉污染的实验研究[J]. 中国医学装备, 2007, 4(11): 17-22.
- [8] 廖怡, 徐雪亮. 自动生化分析仪比色杯中反应残留物对酶法测定肌酐的干扰[J]. 检验医学, 2007, 22(5): 545-547.

(收稿日期: 2010-08-25)