

• 检验仪器与试剂评价 •

Beckman AU5800 生化分析仪交叉污染试验设计与应用

胡远明¹, 王治伟¹, 石凌波², 何 静¹, 李晓靖¹

(1. 广州医科大学附属第四医院检验科, 广东广州 511447; 2. 广东祈福医院检验科, 广东广州 511495)

摘要:目的 设计并验证适合 Beckman AU5800 全自动生化分析仪试剂针和搅拌棒的交叉污染分析方法。方法 以反应盘外圈项目(AST、ALP、TP、LDH、CK-MB、HBDH、Urea、UA、TG、LDL-C、APOB、Mg、P、Zn、AMY、CHE、LPS、ADA)作为试验项目, 按设计的检测顺序进行交叉污染试验, 各项目间的影响率以不超过 95%~105% 为判断标准。结果 全部外圈项目中 TP、HBDH、APOB、TG 分别对 CK-MB、Mg、Mg、LPS 存在交叉污染。结论 通过建立的方法能有效、快速地对 Beckman AU5800 全自动生化分析仪上的所有项目进行交叉污染试验, 初步确定交叉污染产生的关联项目并采取相应的污染避免措施减少交叉污染, 确保检验结果的准确。

关键词:生化分析仪; 交叉污染; 试验设计

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.22.045

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)22-3107-03

Design and application of cross contamination experiment for Beckman AU5800 automatic biochemical analyzer

Hu Yuanming¹, Wang Zhiwei¹, Shi Lingbo², He Jing¹, Li Xiaojing¹

(1. Department of Clinical Laboratory, the Fourth Hospital Affiliated to Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 511447, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Clifford Hospital of Guangdong, Guangzhou, Guangdong 511495, China)

Abstract: Objective To design and verify an analytical method for the cross contamination of Beckman AU5800 automatic biochemical analyzer's reagent needle and stir bar. **Methods** The outer ring items (AST, ALP, TP, LDH, CK-MB, HBDH, Urea, UA, TG, LDL-C, APOB, Mg, P, Zn, AMY, CHE, LPS, ADA) were tested as the experiment objects. The cross contamination experiment was proceeded according to the test order. The impact rate range of 95%~105% was the criteria for cross contamination of items. **Results** Among all of the outer ring items, TP, HBDH, APOB and TG were found to have cross contamination effect on CK-MB, Mg, Mg and LPS respectively. **Conclusion** The method established in this experiment can effectively analyze the cross contamination of all the items in Beckman AU5800 automatic biochemical analyzer. In addition, it can help to adopt corresponding measures to reduce cross contamination and assure the accuracy of test results.

Key words: biochemical analyzer; cross contamination; experiment design

Beckman AU5800 全自动生化分析仪采用 2 根样本加样针和内外双圈比色杯的设计, 共有 9 对 18 根搅拌棒、2 根试剂 1 区加样针、2 根试剂 2 区加样针, 具有加样速度快、多项目、多样本的高效处理能力, 由于共用加样针、试剂针、循环使用搅拌棒和 408 个比色杯, 仪器长时间高负荷运行后交叉污染的情况不可避免地存在。在实际工作中主要表现为某一项目的测定结果室内质量控制一直良好, 但在批量进行日常样本检测时某个项目结果表现异常, 有的增高有的呈减低现象, 但单独复查该项目时结果又正常, 结合整体情况一般考虑为存在项目间交叉污染。由于交叉污染的出现具有随机性, 通过常规室内质量控制观察往往不能及时反映出交叉污染的存在, 导致此类干扰不易鉴别, 对常规检验工作造成很大的影响。本研究通过对 Beckman AU5800 全自动生化分析仪的工作流程仔细分析设计了如下方法进行交叉污染试验, 可以很方便地找出交叉污染产生的相互影响的项目, 并采取措施加以纠正。

1 资料与方法

1.1 一般资料 取实验室内无溶血、脂浊的体检人群新鲜血清约 30 mL 制成混合血清样本备用。

1.2 仪器与试剂 Beckman AU5800 全自动生化分析仪。天

门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、总蛋白(TP)、乳酸脱氢酶(LDH)、尿素(Urea)、尿酸(UA)、三酰甘油(TG)、镁离子(Mg)、磷(P)、淀粉酶(AMY)检测试剂由 Beckman Coulter 商贸(中国)有限公司提供; 肌酸激酶-同工酶(CK-MB)、 α -羟丁酸脱氢酶(HBDH)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、载脂蛋白 B(APOB)检测试剂由德赛诊断系统(上海)有限公司提供; 胆碱酯酶(CHE)、脂肪酶(LPS)、腺苷脱氨酶(ADA)检测试剂由宁波美康生物技术有限公司提供, 锌离子(Zn)检测试剂由英国 Randox 公司提供。

1.3 方法

1.3.1 交叉污染初试验 将混合血清样本混合均匀, 离心去除沉淀后等分为 39 份(混合血清份数与试验的项目总数有关)。假设本次试验选择 A、B、C、D、E 共 5 个项目来考察各个项目之间的交叉污染, 试剂针是按 A→E 依次吸、吐试剂, 各测试项目的上机顺序按表 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)进行(其中字母代表该样本对应的检测项目, 数字代表输入的样本号), 试验前先对仪器进行日常维护保养, 监测水质处于良好状态, 所有样本的上机处理按常规患者样本对待, 用连续的 5 次结果计算该项目的均值(分别用 Av、Bv、Cv、

D_v、E_v 表示), 将数据填入表 2(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)进行分析, 将各个项目的相互影响通过百分率(影响率)来表示, 一般影响率超过 95%~105% 范围则怀疑存在污染^[1]。

1.3.2 交叉污染确定试验 Beckman AU5800 全自动生化分析仪为三头搅拌棒, 每个比色杯分别经过对应的 R1、S、R2 搅拌棒混匀搅拌, 然后比色测定, 因此第 1 个检测项目和第 4 个检测项目共用相同的搅拌棒, 确定疑似污染的项目后将混合血清分为若干份, 按表 3 流程检测即可确定污染来源是试剂针还是搅拌棒, 因有的项目搅拌棒的携带污染可以延续到后面的第 2 次甚至第 3 次测试, 所以本研究在中间加入 4 次生理盐水的检测(用 S_a 表示), 则可以通过 A₁/A₄(B 对 A 的影响率)和 A₅/A₈(C 对 A 的影响率)来判断试剂针污染, 通过 A₃/A₄(B 对 A 的影响率)和 A₇/A₈(C 对 A 的影响率)来判断搅拌棒污染。

2 结 果

2.1 通过对比色杯外圈上的所有 18 个项目的检测, 共得到 396 个有效试验数据, 计算得出每个项目的均值。将数据填入表 2 即可算出每个项目之间的影响率, 检索影响率超过了 95%~105% 范围的项目, 得到疑似存在交叉污染的关联项目共有 36 对, 分别为 AST/CK-MB、AST/Zn、AST/LPS、ALP/AST、ALP/CK-MB、ALP/Zn、TP/CK-MB、TP/Mg、TP/Zn、LDH/CK-MB、LDH/Mg、LDH/Zn、CK-MB/LPS、HBDH/CK-MB、HBDH/Mg、Urea/AST、UA/CK-MB、UA/LPS、TG/CK-

Mb、TG/Mg、TG/LPS、LDL-C/Zn、Mg/AST、Mg/LPS、P/AST、P/CK-MB、AMY/AST、AMY/CK-MB、AMY/Mg、CHE/AST、CHE/CK-MB、CHE/LPS、LPS/AST、ADA/AST、ADA/CK-MB、ADA/Mg。它们的影响率分别为 87.8%、107.2%、109.1%、106.4%、87.8%、108.3%、74.3%、106.3%、110.5%、94.6%、94.4%、107.7%、84.8%、94.6%、105.6%、106.4%、94.6%、87.8%、94.6%、105.6%、303.3%、105.5%、106.4%、89.5%、106.4%、94.6%、106.4%、94.6%、108.9%、106.4%、94.6%、90.9%、106.4%、106.4%、94.6%、105.3%。

2.2 通过确认数据发现 TP 对 CK-MB, HBDH, LDL-C、APOB 对 Mg, TG 对 LPS 的检测既有试剂针的污染也有搅拌棒的污染, 其中 TG 对 LPS 的污染最为严重(试剂针和搅拌棒的影响率分别达到 152.3% 和 334.0%), ALP 对 CK-MB 和 TP 对 Zn 只存在搅拌棒的污染, ALP、CK-MB 对 Mg 和 Mg 对 LPS 则存在试剂针的污染, 见表 4。

2.3 将确认存在携带污染的项目按仪器的污染避免程序(施污染项目设置 Preceding test, 受污染项目设置为 Following test)设定: 试剂针用水加强清洗 1 次, 搅拌棒用水加强清洗 1 次再进行污染确认试验, 其他项目污染情况都顺利消除, 只有 TG 对 LPS 仍存在搅拌棒的携带污染, 影响率为 160.9%, 具体见表 5。其影响可持续到第 3 次检测, 影响率仍然高达 110.1%, 通过设置交叉污染避免程序加强清洗 3 次搅拌棒(碱性洗液 2 次+水洗 1 次)后, 其携带污染才成功消除。

表 3 污染确认检测流程及原理

样本号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	...
项目	B	A	A	A	A	S _a	S _a	S _a	C	A	A	A	A	S _a	S _a	...	
结果	B	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	C	A ₅	A ₆	A ₇	A ₈	S	S	...
搅拌棒	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	...

表 4 疑似污染确认数据(%)

污染部位	TP/CK-MB	ALP/CK-MB	ALP/Mg	TP/Mg	CK-MB/Mg	HBDH/Mg	TG/Mg	LDL-C/Mg	APOB/Mg
试剂针	114.3	100.0	105.7	98.9	105.5	109.2	102.2	93.6	91.3
搅拌棒	92.9	93.3	101.1	100.0	97.8	106.9	101.1	90.4	93.5

续表 4 疑似污染确认数据(%)

污染部位	施污染项目	Zn/Mg	AMY/Mg	TP/Zn	ALP/Zn	TG/LPS	UA/LPS	Mg/LPS	APOB/LPS	CHE/LPS
试剂针	测定值 1/4 (试剂针)	103.4	95.6	97.4	99.0	152.3	104.4	89.2	100.9	96.4
搅拌棒	测定值 3/4 (搅拌棒)	98.9	102.2	106.2	97.9	334.0	95.5	101.8	103.1	96.7

表 5 加强清洗效果确认

污染相关项目	TP/CK-MB	ALP/CK-MB	ALP/Mg	CK-MB/Mg	HBDH/Mg	LDL-C/Mg	APOB/Mg	TP/Zn	Mg/LPS	TG/LPS
测定值 1	14.0	15.0	0.90	0.92	0.88	0.93	0.91	19.1	60.4	60.1
测定值 2	14.0	16.0	0.88	0.88	0.86	0.93	0.91	19.8	61	63.0
测定值 3	14.0	15.0	0.89	0.90	0.87	0.95	0.90	19.6	61.5	94.8

续表 5 加强清洗效果确认

污染相关项目	TP/CK-MB	ALP/CK-MB	ALP/Mg	CK-MB/Mg	HBDH/Mg	LDL-C/Mg	APOB/Mg	TP/Zn	Mg/LPS	TG/LPS
测定值 4	14.0	15.0	0.88	0.91	0.87	0.94	0.92	19.4	61.2	58.9
试剂针污染(测定值 1/4,%)	100.0	100.0	102.2	101.1	101.1	98.9	98.9	98.4	98.7	102
搅拌棒污染(测定值 3/4,%)	100.0	100.0	101.1	98.9	100.0	101.0	97.8	101.0	100.5	160.9

3 讨 论

生化分析仪的携带污染种类很多,一般包括比色杯的污染,试剂针或搅拌棒的污染,或者既有试剂针也有搅拌棒的污染。携带污染的形成通常是前一个检测项目的试剂中含有下一个检测项目的待测成分或者是前一测试项目的反应产物或试剂中的某一成分直接参与了下一测试的反应过程,从而对后续检测项目产生或正或负的影响。不同的生化分析仪工作流程、比色杯、试剂针、搅拌棒的数量和制造工艺各不相同,所以在携带污染的报道上也不完全一致^[2-4]。本研究发现 TG 对 LPS 的正干扰主要体现在搅拌棒的携带污染:第 1 次影响率为 334.0%,第 2 次为 160.9%,其影响可持续到后续的第 3 次检测,影响率仍然高达 110.1%。本研究通过设置交叉污染避免程序加强清洗 3 次搅拌棒(碱性洗液 2 次+水洗 1 次)后,其携带污染才成功消除。

对待生化分析仪的携带污染问题,可以通过调整项目的分析顺序或将有污染的项目设置在不同的内外反应转盘上^[5],也可以采用简单的加强清洗程序来消除,虽然加强清洗对仪器的检测速度不可避免地带来影响。本研究通过对 Beckman AU5800 的检测流程入手制定了以上的标准分析模式,并摸索出一套采用固定的表格计算的方法,应用这种方式可以方便地一次性检测出分析仪的所有项目相互间的试剂针和搅拌棒的交叉污染情况,检测人员只需要根据试验结果设置污染避免程序即可。按照以上的试验设计,也能很容易地把所有内圈比色杯上的项目间交叉污染分析清楚,从而省去了花费大量时间去

更改试验项目的编程和反复调整测试项目的顺序,对于与 Beckman AU5800 工作流程相似的生化分析仪也同样可以采用这套方法,与同类研究报道相比,本试验方法的可操作性更强,并且能节约试剂成本^[6-7]。

参考文献

- 程晓军,荆成宝,赵斌. OLYMPUS AU2700 全自动生化分析仪精密度和交叉污染率评价[J]. 现代检验医学杂志, 2006, 20(6): 45-47.
- 林霞. 全自动生化分析仪试剂添加方式对实验结果的影响[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(8): 1010-1012.
- 李春妹. 生化分析仪交叉污染的评价[J]. 中国医药指南, 2013, 11(9): 96-97.
- 周丽敏,陈毅聪. 全自动生化分析仪试剂针携带污染对脂肪酶测定的影响[J]. 实验与检验医学, 2013, 31(3): 288-290.
- 毛盛尧,高国生,周尧东. OLYMPUS AU2700 全自动生化分析仪携带污染检出及解决措施[J]. 实用医学杂志, 2013, 29(3): 479-481.
- 尚晓泓,胡晓丽,王海龙,等. 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.
- 李浩,张卉,秦晓燕,等. 浅析 OLYMPUS AU640 自动生化分析仪交叉污染的具体原因[J]. 医疗卫生装备, 2010, 31(8): 106-107.

(收稿日期:2014-04-08)

(上接第 3106 页)

重要意义^[5]。与血小板报警信息相比,红细胞报警信息也有一定的提示意义。仪器报警提示“贫血+细胞大小不均”的标本有 31 例,而手工涂片镜检发现其中有 28 例存在红细胞大小不一或异常形态红细胞,可见对于大小不一红细胞数目较多的标本,仪器的提示作用是比较可靠的。仪器报警提示“贫血+大小不均+碎片”的 33 例标本中,涂片镜检发现 29 例存在多少不等的红细胞碎片,有文献报道光学法在一定范围内可有效地排除小红细胞和细胞碎片对血小板计数的影响,能较准确地检出大血小板及异常血小板^[6-7],这与本研究的结论是一致的。因此,在诊断血液系统疾病特别是白血病、MDS、ITP、缺铁性贫血或溶血性贫血时,最好采用光学法或手工显微镜计数法检测血小板。

综上所述,当血小板计数在正常参考范围内且仪器无红细胞或血小板的报警信息时,PLT-M、PLT-I、PLT-O 均可靠;当血小板计数低于正常参考值时,PLT-I 误差较大,需采用手工镜检法和光学法复检或矫正;当仪器出现红细胞或血小板报警信息时,应进行涂片复检,查找引起血小板计数误差的原因,及时采取必要的纠正措施,为临床诊治提供可靠依据。

参考文献

- 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:

东南大学出版社, 2006: 136-137.

- England JM, Rowan RM, Bins M, et al. Recommended methods for the visual determination of white cell and platelet counts[J]. World Health Organ LAB, 1988, 3: 1.
- 车铁群,沈迪,董莹莹,等. 3 种方法检测血小板的对比分析[J]. 北京医学, 2011, 33(7): 593-594.
- 陈小剑,王晓欧,舒旷怡,等. 三种检测血小板数方法的初步评价[J]. 检验医学, 2006, 21(1): 61-63.
- 刘善凤,王利民,曾筱倩,等. 涂片镜检对初步纠正血小板假性降低的意义[J]. 临床血液学杂志, 2010, 23(4): 193-195.
- 陈梅,黄丽云,方伟祯,等. XE-2100 全自动血细胞分析仪两种血小板计数方法与镜检法计数血小板的比较[J]. 临床和实验医学杂志, 2008, 7(3): 99-100.
- 茅蔚,熊立凡,于嘉屏. XE-2100 血液分析仪两种血小板计数方法的准确性在血液疾病中的观察[J]. 检验医学, 2007, 22(4): 459-462.

(收稿日期:2014-06-20)