

# 日立 7080 酶法检测钠交叉污染的查找和清除

李伟波<sup>1</sup>, 李娟<sup>2△</sup>, 贾黎方<sup>1</sup>

(1. 江苏省徐州市精神病院检验科 221006; 2. 江苏省徐州市儿童医院检验科 221006)

**摘要:**目的 探讨日立 7080 酶法检测钠的交叉污染的清除问题。方法 首先通过试验检查样品针是否携带污染,然后通过试验发现试剂间有无交叉污染,进而查找试剂间交叉污染发生的位置,最终采取相应的措施消除交叉污染。**结果** 试剂针被污染时,总胆红素(TBIL)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)2 个项目对酶法检测钠有显著影响。**结论** 生化分析仪试剂针老化导致酶法检测钠发生交叉污染后,只能更换试剂针 R1 和 R2,污染才能彻底消除。

**关键词:**酶法; 钠; 交叉污染

**中图分类号:**R446.9

**文献标志码:**A

**文章编号:**1672-9455(2019)01-0054-04

## Determination and purification of sodium cross pollution by Hitachi 7080 enzyme detection

LI Weibo<sup>1</sup>, LI Juan<sup>2△</sup>, JIA Lifang<sup>1</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, Xuzhou Psychiatric Hospital, Xuzhou, Jiangsu 221006, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Xuzhou Children's Hospital, Xuzhou, Jiangsu 221006, China)

**Abstract: Objective** To explore the cross-contamination of sodium by Hitachi 7080. **Methods** Firstly whether the sample needle carrying pollution and reagents was checked, and then the site of cross-contamination between reagents and sample needle were found, finally ultimately appropriate measures were taken to eliminate cross-contamination. **Results** Both TBIL and LDL had a significant effect on enzymatic detection of sodium when the reagent was contaminated. **Conclusion** Biochemical analyzer reagent needle aging lead to enzymatic detection of sodium cross-contamination, only reagent needles R1, R2 has been replaced, pollution can be completely removed.

**Key words:** enzyme; sodium; cross-contamination

江苏省徐州市精神病院从 2015 年 8 月采用日立 7080 生化分析仪开展酶法检测钠(Na),质控和标本结果一直符合临床要求。2017 年 2 月发现 Na 单独检测和在全套中连续检测的结果有明显差异,单独检测 Na 时,质控和标本结果符合临床要求;生化全套中连续检测时,质控和标本结果都比单独检测的结果高。问题出现后,通过一系列试验找到了污染发生的原因,并且采取了相应的措施,最终解决问题。

### 1 材料与方法

**1.1 仪器与试剂** 生化仪器采用日立 7080 生化分析仪,钾钠氯试剂为宁波美康公司生产,锂检测试剂为中生北控公司生产,其他试剂均为重庆中元公司生产。

**1.2 质控及校准品** 质控品为郎道公司生产(质控 2 批号 1104UN,质控 3 批号 801UE),Na 离子校准品为 Na 离子检测试剂盒配带的 2 个不同浓度的校准品(批号 17030301)。

**1.3 试验标本** 留取试验当天无溶血、脂血,黄疸患者血清制成混合血清,作为本试验的标本。

### 1.4 方法

**1.4.1 精密度试验** 根据试验形式的特点,做批内重复性试验<sup>[1]</sup>。取 20 份混合血清,按照下列方式进行检测,方式 1:20 份混合血清只检测 Na;方式 2:20 份混合血清以生物化学全套组合的方式检测 Na。

**1.4.2 检查样品针携带污染的试验** 使用 Na 离子试剂盒自带的 2 个校准品(高值 160 mmol/L,低值 120 mmol/L)进行本试验,先测 1 次高值校准品,再连续 3 次检测低值校准品,计算 $|1 - \text{第 1 次测定的低值校准品} / \text{第 3 次测定的低值校准品}| \times 100\%$ ,如果结果 $<5\%$ ,表示样品针携带污染忽略不计,本次污染排除样品针的因素;如果结果 $>5\%$ ,提示样品针携带污染严重。

**1.4.3 检查试剂间交叉污染的试验** 本试验分为 2 个步骤,第 1 步:筛选出对 Na 检测疑似有污染的检测项目;第 2 步:筛选出来的项目进行确认试验。

**1.4.4 交叉污染的初筛试验** 假设在日立 7080 生化分析仪上检测顺序排在 Na 前面的所有项目对 Na 都有污染,总共有 27 个项目,取 30 份混合血清,编号为 1~30,1~3 号血清检测 Na,4~30 号血清分别检测 1 个生化项目和 Na,得到的 Na 结果记录为 Na1~

Na30,取 Na1、Na2、Na3 的 3 次结果的平均值作为 Na 不受污染的测定值,Na4~Na30 作为受污染测定值,计算 $|1 - \text{Na 受污染测定值}/\text{Na 不受污染测定值}| \times 100\%$ ,如果结果 $>5\%$ ,说明初筛试验对 Na 有交叉污染。

**1.4.5 初筛有污染的项目进行确认试验** 通过初筛试验,假设 A、B、C 3 个项目对 Na 有污染,取 12 份混合血清,编号为 31~42,依次进行检测:A Na Na Na、B Na Na Na、C Na Na Na,得到的结果记录为 A(31) Na(32)Na(33) Na(34)、B(35) Na(36) Na(37) Na(38)、C(39) Na(40) Na(41) Na(42),计算 $|1 - \text{测定值} 1/\text{测定值} 3| \times 100\%$ ,如果结果 $>5\%$ ,确定对 Na 检测有污染。见表 1。

表 1 交叉污染项目的确认试验

实施污染项目	测定值 1 (mmol/L)	测定值 2 (mmol/L)	测定值 3 (mmol/L)	$ 1 - \text{测定值} 1/\text{测定值} 3 (\%)$
A	Na32	Na33	Na34	$ 1 - \text{Na}32/\text{Na}34 $
B	Na36	Na37	Na38	$ 1 - \text{Na}36/\text{Na}38 $
C	Na40	Na41	Na42	$ 1 - \text{Na}40/\text{Na}42 $

**1.4.6 查找试剂间交叉污染发生的部位 通过试验**

表 2 检查反应杯交叉污染的试验

反应杯编号	第 1 次测试项目	第 2 次测试项目	第 2 次测试 Na 的平均值	$ 1 - \text{污染杯 Na 的均值}/\text{未污染杯 Na 的均值} (\%)$
1、62、3、64、5(污染杯)	A	Na	Na43	$ 1 - \text{Na}43/\text{Na}45 (\%)$
66、7、68、9、70(污染杯)	B	Na	Na44	$ 1 - \text{Na}44/\text{Na}45 (\%)$
11、72、13、74、15(未污染杯)	Na	Na	Na45	

**1.4.6.2 检查试剂针、搅拌棒交叉污染的试验** 对 Na 检测有污染的项目确定后,在 Utility 界面下的 Special Wash 增加特殊清洗,观察污染有无改善消除:(1)增加纯水清洗,观察这些项目对 Na 的污染是否改善、消除。(2)设置碱性洗液 HIALKALT-D 清洗,观察这些项目对 Na 的污染是否改善、消除。(3)设置酸性洗液 HICARRYNON 清洗,观察这些项目对 Na 的污染是否改善、消除。(4)分别更换搅拌棒和试剂针,观察这些项目对 Na 的污染是否改善、消除。酸性洗液和碱性洗液的吸取量均设置为 20 UL。

**2 结 果**

**2.1 精密度的试验结果** 2 种检测方式的重复性都很好,排除了仪器精密度和试剂稳定性对污染的影响。见表 3。

表 3 精密度的试验结果

统计值	方式 1	方式 2
$\bar{x}$ (mmol/L)	148.1	157.2
SD	1.71	1.91
CV	1.15	1.21

**2.2 样品针携带污染的试验结果** Na 离子检测试剂盒中高值校准品的浓度为 160 mmol/L,低值校准

品浓度为 120 mmol/L,通过试验,提示生化分析仪不存在样品针的携带污染。见表 4。

表 4 样品针携带污染的试验结果(mmol/L)

校准品类别	校准品值
高值校准品测定值	160.5
第 1 次测定低值校准品值	120.6
第 2 次测定低值校准品值	120.2
第 3 次测定低值校准品值	121.0
$1 - \text{第 1 次测定的低值校准品}/\text{第 3 次测定的低值校准品} (\%)$	0.3%

**2.3 检查试剂间交叉污染的试验结果**

**2.3.1 初筛试验结果** 通过初筛试验,发现总胆红素(TBIL)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)2 个项目对 Na 的测试存在疑似交叉污染。见表 5。

表 5 初筛试验结果

疑似污染项目	Na 不受污染测定值	Na 疑似受污染测定值	$ 1 - \text{Na 受污染测定值}/\text{Na 不受污染测定值} (\%)$
TBIL	147.5	156.6	6.2
LDL-C	147.5	157.8	6.8

**2.3.2 试剂间交叉污染确认试验结果** 对初筛疑似

对 Na 有污染的 TBIL 和 LDL-C 进行确认试验,通过试验,确定 TBIL 和 LDL-C 2 个项目对 Na 的检测存在交叉污染。见表 6。

### 2.4 查找试剂间交叉污染的发生部位结果

**2.4.1 检查反应杯交叉污染试验结果** 确定生化项目 TBIL 和 LDL-C 对 Na 检测有污染后,通过试验,说明反应杯间不存在交叉污染。见表 7。

表 7 反应杯交叉污染试验结果

反应杯编号	第 1 次测试项目	第 2 次测试项目	第 2 次测试 Na 的平均值 (mmol/L)	1 - 污染杯 Na 的均值 / 未污染杯 Na 的均值  × 100%
1、62、3、64、5(污染杯)	A	NA	147.6	0.2%
66、7、68、9、70(污染杯)	B	NA	147.5	0.3%
11、72、13、74、15(未污染杯)	NA	NA	147.9	

**2.4.2 检查试剂针、搅拌棒交叉污染试验结果** 通过对试剂针、搅拌棒先后进行水洗、碱液清洗、酸液清洗, TBIL 和 LDL-C 对 Na 的污染未得到改善、消除,在各种清洗处理无效后,更换试剂针、搅拌棒。更换搅拌棒后,发现污染问题依旧未得到改善、消除,排除搅拌棒对此次污染的影响;更换试剂针 R1 和 R2 后,污染问题得到彻底解决。

### 3 讨论

随着现代检验技术的发展,全自动生化分析仪实现了检验工作的自动化,极大地提高了工作效率,但是在提供便利的同时,也带来新的困扰——污染干扰测定结果<sup>[2]</sup>。日常工作中发生交叉污染时,应当制订合理的方法,逐步排查交叉污染发生的环节,最终发现并消除交叉污染。

根据日立 7080 的工作原理,检测项目间的交叉污染分为样本污染和试剂污染。样本污染通常发生在样品针,试剂污染通常发生在试剂针、反应杯、搅拌棒等部位。样品针发生污染时,应该在 Utility 界面的 Special Wash 中增加样品针特殊清洗,在样品盘 W3 位置放置 HICARRYNON 清洁剂,清洁剂的吸取量设置为 20 UL,但是此清洗功是否能用于质控和标准液的测定;清洗之后,如果样品针污染继续存在,更换样品针。反应杯发生污染时,首先执行反应杯清洗(Wash Cells),然后在 Utility 界面的 Special Wash 中增加特殊清洗,设置碱性洗液 HIALKALT-D 清洗,如果无效,设置酸性洗液 HICARRYNON 清洗,酸性洗液和碱性洗液的吸取量均设置为 20 μL。如果反应杯污染继续存在,更换反应杯。生化分析仪的试剂针和搅拌棒长期使用后,试剂针的内侧和针尖外侧、搅拌棒表面的漆面都会有一定程度的损伤,容易附着试剂、水滴等,不容易被清洗彻底,在各种清洗处理无效后,应该及时更换试剂针、搅拌棒。本次交叉污染发生后,首先通过做批内重复性试验,排除仪器精密

表 6 交叉污染确认试验结果

实施污染项目	测定值 1 (mmol/L)	测定值 2 (mmol/L)	测定值 3 (mmol/L)	1 - 测定值 1 / 测定值 3  (%)
LDL-C	157.2	153.1	148.7	5.7
TBIL	156.0	150.2	146.5	6.5

度和试剂稳定性对污染的影响;其次通过试验排除样品针的携带污染;然后通过初筛试验和确定试验,验证试剂间交叉污染的存在,即 TBIL 和 LDL-C 2 个项目对酶法检测 Na 有显著影响;紧接着通过试验找出交叉污染发生的部位试剂针,最终通过更换试剂针 R1 和 R2,消除本次的污染。

一种试剂对另一种试剂产生影响的原因通常有 2 个方面:一是对另一种试剂的底物有影响(含有底物或者与底物发生反应);二是对另一试剂的整个反应进程产生影响<sup>[3]</sup>。查看 LDL-C、TBIL、Na 检测试剂盒说明书,发现 LDL-C 的 R1、R2 试剂中均含有 GOOD, S 缓冲液(含有氢氧化钠), TBIL 的 R1 试剂中含有酒石酸盐缓冲液(含有酒石酸钠), R2 试剂中含有磷酸盐缓冲液(含有 NaCl)和偏矾酸钠,将 LDL-C 和 TBIL 的 R1、R2 试剂进行 Na 离子浓度检测: LDL-C R1 198.7 mmol/L, R2 180.2 mmol/L; TBIL R1 221.3 mmol/L, R2 177.2 mmol/L。有学者提出了酶法测定血清 Na 离子的方法。测定原理:临硝基酚-D 半乳糖苷在 Na 依赖性 D 半乳糖苷酶的催化下生成临硝基酚和半乳糖,临硝基酚的生成量和样品中 Na 离子的浓度成正比<sup>[4-5]</sup>。因此推断本试验 Na 检测被污染的原因:由于试剂针的老化, LDL-C 和 TBIL 试剂中的高浓度 Na 离子直接影响了后面的 Na 离子检测,并且使 Na 离子检测结果升高。

有报道表明,随着仪器使用年限的延长,污染现象会逐步加剧,并且交叉污染常在受污染项目单独和连续检测的结果差异较大时才被发现<sup>[6-8]</sup>。该科室这次交叉污染的出现,证实了这一结论。仪器在老化、维护欠缺时导致的清洗能力低下和仪器内污垢积聚造成的黏附增加,均使仪器不能有效清除检测项目间的交叉污染<sup>[9]</sup>。因此,日常工作一定要重视仪器的维护保养,根据仪器说明书中的零件定期更换的要求,结合本科室仪器的实际使用时间,及(下转第 60 页)

于该方法,国内外也有相关研究,一致认为该方法不受卡介苗影响,与其他大多数非结核分枝杆菌无交叉免疫反应<sup>[16]</sup>。

该方法最后判读结果时可能会出现因为 P 值过低或 N 值过高等原因造成的结果不确定,因此应尽量避免因操作过程中未加入合适量的刺激液、全血采集后放置时间过长、孵育温度不够或过长、试验过程中环境污染等人为因素造成的试验误差。还有一些是患者的自身问题,如患有影响免疫功能的疾病、服用免疫抑制剂类药物等导致 T 淋巴细胞对外界刺激不敏感、T 淋巴细胞总数偏低或者患有风湿免疫类疾病、急性病毒感染、正在或刚结束干扰素治疗等,都可能造成结果的不确定性。所以应该结合实验室条件及患者的临床特点综合分析,去除影响因素后复查或者结合其他辅助检测进行综合判断。

综上所述,安图 TB-IGRA 产品将细胞免疫反应体系与磁微粒化学发光法体系结合,通过检测 IFN- $\gamma$  的释放水平,从而诊断是否存在结核分枝杆菌感染。该方法操作简便、快速、易于自动化操作,避免了很多人为操作造成的结果误差,可用于活动性或潜伏性结核的辅助诊断,可结合病史、细菌学检查、病理学检查、影像学检查等多种检查手段综合判断,有较高的临床诊断价值,值得临床应用推广。

## 参考文献

- [1] 霍霏霏,张丽帆,刘晓清. 评价  $\gamma$  干扰素释放分析 T-SPOT·TB 在肺外结核病诊断中的敏感性[J]. 中国医学科学院学报, 2009, 31(4): 449-452.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 卫生部召开新闻发布会介绍全国肺结核疫情现状[S]. <http://www.moh.gov.cn/publicfiles/business/htmlfiles/mohjbyfkj/s3590/201103/51027.htm>.
- [3] 张培莉,刘义庆,邵婧,等. 结核感染 T 淋巴细胞 IFN- $\gamma$  释放实验临床检测分析[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(1): 22-25.

(上接第 56 页)

时更换易老化的零件,避免由于仪器零件老化带来的交叉污染,保证检验结果的准确性,更好地为临床服务。

## 参考文献

- [1] 周新,涂植光. 临床生物化学和生物化学检验[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2006: 33-33.
- [2] 陈燕,黄泽玉,许喆,等. 生化分析仪交叉污染发现和消除方法探索[J]. 标记免疫分析与临床, 2015, 22(3): 215-223.
- [3] 陈茹,张波,王永新,等. 日立 7180 全自动生化分析仪项目间交叉污染实验研究[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(18): 1973-1975.
- [4] 郭华. 酶法测定血清钠离子的评价[J]. 检验医学, 2012,

- [4] 赵群莉. 常见实验室结核菌检测的方法及进展[J]. 医学综述, 2010, 16(13): 2051-2052.
- [5] 胡静,袁文清. PCR 技术检测体液中结核分枝杆菌的结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(5): 588-589.
- [6] 王宗义,胡爱荣,蒋素文,等. 2014 年 T-SPOT, 痰涂片和 TB-DNA 平行检测在结核病中的诊断评价[J]. 中国预防医学杂志, 2014, 15(5): 249-252.
- [7] 谭珂,孙炳奇. 荧光定量 PCR 检测技术在结核诊断中的应用探讨[J]. 中国医疗器械信息, 2018, 24(4): 7-8.
- [8] 杨建蓉,杨红. T-SPOT、TB 和 TST 在结核诊断中的临床意义[J]. 医学综述, 2015, 21(12): 2279-2281.
- [9] 田瑞雪,马丽萍,武红莉,等.  $\gamma$ -干扰素释放试验对老年肺结核的辅助诊断价值[J]. 实用老年医学, 2018, 32(2): 140-143.
- [10] 袁平,吴国斌,刘欣欣.  $\gamma$ -干扰素释放试验在肺结核诊断中的应用价值[J]. 现代医院, 2016, 16(10): 1486-1487.
- [11] DAVIES P D, PAL M. The diagnosis and miadiagnosis of tuberculosis[J]. J Tuberc Lung Dis, 2008, 12(11): 1226-1234.
- [12] 王凤平,陈蕾,陈苏芳,等. 结核感染 T 细胞检测在肺外结核诊断应用价值[J]. 实用预防医学, 2014, 21(10): 1247-1249.
- [13] CAMPBELL J R, CHEN W J, JOHNSTON J, et al. Latent tuberculosis infection screening in immigrants to Low-Incidence countries: a Meta-Analysis[J]. Mol Diagn Ther, 2015, 19(2): 107-117.
- [14] 张丽帆,张月秋,刘晓清.  $\gamma$  干扰素释放分析在结核病中的诊断价值[J]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2012, 6(6): 633-636.
- [15] 赵巍松,刘伶,杨飞. 母乳及婴儿血液、尿液人巨细胞病毒 DNA 检测在婴儿 HCMV 感染中的应用[J]. 中国实验诊断学, 2013, 17(6): 1059-1061.
- [16] 钟洪燕,马莹,康梅,等. 结核分枝杆菌相关  $\gamma$ -干扰素体外释放试验对结核病的诊断价值[J]. 四川医学, 2015, 36(9): 1269-1271.

(收稿日期:2018-06-25 修回日期:2018-09-13)

27(10): 813-815.

- [5] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社, 2015: 245-246.
- [6] 于雷. 生化自动分析仪项目间试剂的交叉污染及其避免方法[J]. 临床检验杂志, 2003, 21(3): 168-168.
- [7] 陈寿林. 生化检测中的交叉污染及预防[J]. 现代实用医学, 2003, 15(11): 698-698.
- [8] 周威勇. 全自动生化分析仪检测试剂间干扰减免方法的探讨[J]. 实验与检验医学, 2011, 29(1): 86-86.
- [9] 杜立水. 全自动生化分析仪试剂间携带污染及解决方法[J]. 实验与检验医学, 2011, 29(6): 685-686.

(收稿日期:2018-06-17 修回日期:2018-09-04)