

• 论 著 •

罗氏生化分析仪上 30 个检验项目对总胆汁酸测定的干扰因素分析及解决措施

贾秋桦

(临沂市妇女儿童医院检验科, 山东临沂 276000)

摘要:目的 探讨 Roche Modular P800 全自动生化分析仪上 30 个常用检验项目对总胆汁酸测定结果的影响, 寻找消除携带污染的有效措施。方法 以总胆汁酸为检测项目, 以总胆红素、直接胆红素等 30 个常规检测项目为观察项目, 根据交叉污染项目的筛选程序从 30 个常规项目中筛选出对总胆汁酸测定有干扰的项目, 并进行确认试验。对存在携带污染的项目之间增加试剂针、比色杯特殊清洗程序和调整检验顺序, 观察经特殊处理前后对总胆汁酸检测结果的影响程度。结果 高密度脂蛋白、尿酸、脂肪酶这 3 个检验项目对总胆汁酸的测定有干扰; 增加试剂针和比色杯的特殊冲洗后, 可消除高密度脂蛋白和尿酸对总胆汁酸测定结果的干扰, 调整脂肪酶检测顺序后, 能基本消除脂肪酶对总胆汁酸结果的干扰。结论 全自动生化分析仪各项目之间存在携带污染, 在设定分析参数时, 应注意污染和被污染项目检测的顺序, 应在两者中间间隔开几个项目, 或者用碱液或酸液加强试剂针和反应杯的清洗, 从而避免交叉污染的产生。

关键词: 高密度脂蛋白; 尿酸; 脂肪酶; 总胆汁酸; 交叉污染

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.17.025

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)17-2404-03

The analysis of interference factors and solutions to the cross contamination between total bile acid and 30 inspection items on the Roche biochemical analyzer

JIA Qiuhua

(Department of Clinical Laboratory, Women and Children's Hospital of Linyi City, Linyi, Shandong 276000, China)

Abstract: Objective To explore the interference factors of total bile acid project and 30 routine items on the Roche Modular P800 automatic biochemical analyzer, and to find the effective measures to eliminate the carry-over. **Methods** In accordance with the screening process, the interference factors of total bile acid project as the test item, 30 regular testing projects as the observation objects, including total bilirubin, direct bilirubin and so on, and then the validation test were carried out. By means of the increasing cleaning procedures of the reagent needles or colorimetric cups and adjusting the test sequence, we compared the influence of the result of total bile acid before and after this kind of treatment. **Results** There were the carry-over of high density lipoprotein, uric acid and total bile acid, which could be eliminated by increasing cleaning procedures of reagent needles or colorimetric cups. There were the cross contamination of lipase and total bile acid, which could be basically eliminated by adjusting the test sequence. **Conclusion** There are the cross contamination among the various projects of automatic biochemical analyzer. To avoid this carry-over, we should pay attention to the order of the infectant and contaminated items in setting the analysis parameters, insert several projects in the interval, or add the cleaning procedures of the reagent needles or colorimetric cups with alkali or acid.

Key words: high density lipoprotein; uric acid; lipase; total bile acid; cross contamination

总胆汁酸(TBA)是胆固醇代谢的产物, 其对肝功能损害、胆管阻塞及肝内胆汁淤积的诊断具有重要的价值。如果 TBA 的结果失真, 将会误导临床医生诊断和治疗这些疾病。然而在日常工作中偶然发现个别患者 TBA 结果特别高, 复查时又恢复正常, 故初步怀疑 Roche Modular P800 全自动生化分析仪上存在影响 TBA 的干扰因素。全自动生化分析仪上常存在试剂针、搅拌棒和比色杯的携带污染等。因各家仪器性能状态、使用的试剂厂家、方法学不同, 携带污染报道的结果也不一致。为消除 Roche Modular P800 生化分析仪上干扰 TBA 结果的相关因素, 研究者进行了一系列的试验, 分析其产生的原因及解决方案, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 仪器: 罗氏 Roche Modular P800 全自动生化分析仪。试剂: 总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、胆碱酯酶(CHE)、乳酸脱氢酶(LDH)、 γ -谷氨酰转移酶(γ -GGT)、碱性

磷酸酶(ALP)、尿素氮(BUN)、肌酐(酶法 CREA)、尿酸(UA)、葡萄糖(GLU)、总胆固醇(THOL)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)、载脂蛋白 A(ApoA)、载脂蛋白 B(ApoB)、肌酸激酶(CK)、 α -羟丁酸脱氢酶(α -HBDH)、钙(Ca)、镁(Mg)、铁(Fe)、磷(P)、碳酸氢盐(HCO_3^-)、淀粉酶(AMY)均为罗氏原装试剂; 总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)试剂由科华生物工程股份有限公司生产, 肌酸激酶同工酶(CK-MB)试剂为关东化学生产, 脂肪酶(Lip)试剂为德国德赛试剂, TBA 试剂由上海申索佑福医学诊断用品有限公司生产。

1.2 方法

1.2.1 试验前准备 首先对仪器进行保养, 包括比色杯、搅拌棒、试剂针进行浸泡清洗, 以排除仪器本身原因对结果的影响。实验前对各个项目进行定标质控, 保证质控在控。

1.2.2 混合血清的制备和参比值的确定 选取 20 份健康体检者的新鲜血清, 排除黄疸、溶血和脂血的标本, 将标本混合后

稳定 2 h 待测。取 5 份混合血清上机连续测定 5 次 TBA 浓度,以此浓度值作为 TBA 的参比值。

1.2.3 试剂针携带污染的初筛 将混合血清分装成 120 份,在仪器上按照下面排列顺序测试样本:TP、TBA、TBA、TBA、ALB、TBA、TBA、TBA、ALT、TBA、TBA、TBA 等 30 个检验项目与 TBA 逐一配对,4 管为 1 组,怀疑携带污染的项目是第 1 管,被污染项目可重复测试 2~4 管来判断,结果分别为 A1、A2、A3,A1 与参比值结果相差超出 5%为疑似交叉污染,应进一步确认。

1.2.4 试剂针携带污染的确认 (1)将疑似污染项目组合重新测试,连续测定 3 次。若 A1 和 A3 检验结果相差 5%以上确定为污染。(2)将确认携带污染项目的试剂作为标本,连续 3 次测定 TBA。

1.2.5 携带污染的处理 (1)将上述存在对 TBA 有携带污染的项目,试剂针及样品杯设置特殊冲洗程序后,将确认对 TBA 有携带污染的项目与 TBA 的组合项目,连续测定 3 次,观察特殊冲洗前后对 TBA 的影响有无变化。(2)调整受污项目和施污项目的检测顺序,来避免交叉污染。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析,组间比较采用 *t* 检验,*P*<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 个疑似携带污染项目初筛结果 测定混合血清中 5 份血清 TBA 浓度,其平均值为(7.86±0.06)μmol/L。疑似携带污染项目初筛结果显示,30 个常规检验项目中发现 HDL、UA、Lip 这 3 个项目对 TBA 有干扰,见表 1。

疑似携带污染项目	TBA(μmol/L)			试剂针携带污染率(%)
	A1	A2	A3	
HDL/TBA	10.40	8.10	8.10	32.32
UA/TBA	8.40	8.20	8.10	6.87
Lip/TBA	32.60	11.50	9.00	314.76

2.2 携带污染的确认试验结果 将疑似污染项目组合重新测试,连续测定 3 次,结果见表 2;各组项目的确认试剂针携带污染率均>5%,表示 HDL、UA、Lip 这 3 个项目确实对 TBA 存在交叉污染。

疑似携带污染项目	TBA(μmol/L)			确认试剂针携带污染率(%)
	A1	A2	A3	
HDL/TBA	10.30	10.00	9.70	7.63
UA/TBA	8.40	8.20	7.90	6.36
Lip/TBA	38.30	12.00	9.20	370.23

2.3 测定 3 个检验项目 R1 和 R2 试剂对 TBA 的影响 HDL 的 R1 和 R2 试剂、UA 的 R1 试剂、Lip 的 R1 和 R2 试剂中含有大量参与或影响 TBA 反应的物质,如果试剂针冲洗不干净会严重干扰 TBA 的结果,见表 3。

2.4 特殊冲洗后 HDL、UA、Lip 对测定 TBA 的影响 HDL/TBA、UA/TBA 特殊冲洗(酸性冲洗)前后 TBA 的测定结果比较差异有统计学意义(*P*<0.05)。而 Lip/TBA 特殊冲洗前后 TBA 的测定结果比较差异无统计学意义(*P*>0.05)。见表 4。

表 3 HDL、UA、Lip 试剂检测 TBA 浓度(±s)	
试剂	TBA 均值(μmol/L)
HDL R1 试剂	342.00±0.53
HDL R2 试剂	358.67±0.06
UA R1 试剂	569.58±1.25
UA R2 试剂	0.56±0.01
Lip R1 试剂	1 766.00±3.56
Lip R2 试剂	1 998.00±5.36

表 4 特殊冲洗前后 HDL、UA、Lip 对测定 TBA 的影响(±s)					
组合项目	未采用特殊清洗	特殊冲洗后	<i>t</i>	<i>P</i>	效果判断
HDL/TBA	10.03±0.35	8.57±0.21	16.63	<0.05	干扰消除
UA/TBA	8.50±0.10	8.03±0.15	7.00	<0.05	干扰消除
Lip/TBA	32.64±5.05	20.17±4.50	3.88	>0.05	干扰未消除

2.5 调整检测顺序后 Lip 对 TBA 的影响 Lip 单纯依靠试剂针的特殊冲洗并未消除其对 TBA 的交叉污染,故调整 Lip 的检验顺序,将 Lip 的检测顺序调整至 TBA 之后,并增加特殊冲洗程序(酸性冲洗)基本消除了 Lip 对 TBA 的交叉污染。

3 讨 论

全自动生化分析仪具有微量、快速、准确、重复性好等优点,极大地提高了临床实验室的工作效率,但全自动生化分析仪的加样针、试剂针、反应杯和搅拌棒等重要部件检测过程中如未彻底清洗干净,残留部分污染物时均可造成检验结果的不准确^[1-3]。试剂针的携带污染主要有两个原因:(1)上个测试项目的试剂中含有下一测试项目的待测成分或试剂成分,而待测项目的浓度与之相比又很微量时,则直接干扰下一反应的测定结果^[4];(2)该试剂所引导的反应对下一个项目的反应进程有间接的干扰。本文主要研究 Roche Modular P800 全自动生化分析仪上试剂针和比色杯的携带污染影响因素,观察各项的试剂成分对 TBA 的干扰。结果表明,由于 Lip R1、R2 试剂含有大量的胆酸盐,UA 和 HDL 试剂中含有抗坏血酸氧化酶成分,这些成分都会影响 TBA 的准确性。另外这些试剂中 TBA 浓度是健康人血清中 TBA 浓度的几百倍,常规的蒸馏水冲洗程序,很难将这种携带污染去除。

试剂携带污染有很多处理措施^[5-7]:(1)增加纯水、碱性洗液、酸性洗液冲洗量和冲洗次数;(2)调整项目的检测顺序;(3)固定试剂探针、比色杯的使用范围;(4)换用相互污染小的试剂或方法;(5)综合处理措施。本文就 HDL、UA、Lip 对 TBA 的交叉污染作出了以下处理:在试剂针和比色杯的冲洗程序增加了酸性洗液冲洗,基本消除了 HDL 和 UA 对 TBA 的干扰,但 Lip 对 TBA 的干扰仍然存在;故采取第 2 种措施,将 Lip 的检测顺序调整至 TBA 之后,且间隔几个项目,并增加试剂针和比色杯的特殊冲洗后,基本上消除了 Lip 对 TBA 的携带污染。

综上所述,生化分析仪的携带污染影响因素很多,日常工作中要警惕和及时发现携带污染的发生,科学地制订改进措施,从而避免发出错误的检验结果,误导临床大夫做出错误的诊断和治疗方案。

质内,与凋亡抑制蛋白(IAPs)结合,令胱门蛋白酶丧失活性后抑制细胞的凋亡^[11]。本研究发现,Smac 在未发生癌前病变的胃溃疡患者中,(一)与(+)表达(17.5%)明显低于发生癌前病变的胃溃疡患者(52.5%),Smac mRNA 在 Y 组中的相对表达量显著低于 N 组,这提示已经发生癌前病变的胃溃疡患者,其病变组织中的 Smac(++)和(+++)表达显著低于未癌前病变组患者,差异有统计学意义($P < 0.05$),与上述研究结论一致。

Survivin 属于 IAPs 中的一种,相关研究指出^[12],Survivin 在细胞周期的调控中对细胞的凋亡具有抑制作用,同时参与了肿瘤发生、发展与预后过程。另外,Survivin 在血管的形成中还具有一定作用^[13]。Survivin 蛋白存在于人类常见的肿瘤中,由于其只能在肿瘤细胞中表达,所以健康的人体组织中几乎无法检出 Survivin 蛋白,这也让应用 Survivin 基因治疗和 Survivin 蛋白特异性抗体免疫治疗更具有靶向性、安全性与特异性,所以 Survivin 蛋白已经成为临床备受关注的抗肿瘤治疗新靶点^[14]。本研究发现,Survivin 在未发生癌前病变的胃溃疡患者中(++)与(+++)表达仅为 15.0%,显著低于有癌前病变的胃溃疡患者(35.0%);另外,Survivin mRNA 在 Y 组中的表达则显著高于 N 组,与上述研究结论一致。Survivin 在人类多种肿瘤组织中表达,邢春瑶等^[15]在对 42 例宫颈癌患者的病变组织中检测出 Survivin 的表达率为 100.0%。在一项非小细胞肺癌的研究中发现,患者体内的 Survivin 表达率达 85.0%^[16],而其他相似的研究也指出^[17],Survivin 在乳腺癌中的阳性率约为 70.0%,膀胱癌中阳性率为 87.0%,黑色素瘤中阳性率为 93.0%,但在上述肿瘤组织周围的正常组织与细胞间质中并未发现 Survivin 的表达,这都说明 Survivin 在肿瘤组织中广泛表达,与肿瘤的发生、发展有密切联系。

综上所述,临床可将 Smac 的降低与 Survivin 的升高作为判定胃溃疡患者组织发生癌前病变的一种辅助诊断,结合患者的实际病情拟定治疗方案,能有效控制患者的细胞凋亡指数,提高患者的生存率。

参考文献

- [1] 陈雷,尚培中. Xiap、Smac 与消化系肿瘤的研究进展[J]. 中国现代普通外科进展,2016,19(4):300-303.
- [2] 杨颖,刘国敏,闫国华. 促凋亡因子与凋亡抑制蛋白在胃溃疡组织中的表达[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2014,23(7):759-761.
- [3] 胡金甫,汪辉,李科珍. Survivin、Bcl-2、HPV16/18 在宫颈癌中的表达及相关性研究[J]. 中国妇幼保健,2014,29

(5):781-784.

- [4] 朱文嘉,李诗敏,王纾宜. Survivin 和增殖细胞核抗原(PCNA)在鼻腔鼻窦恶性黑色素瘤(SNM)中的表达及其临床意义[J]. 复旦学报:医学版,2014,41(5):596-601.
- [5] 王志红,鲍德明,石振旺,等. 溃疡型胃癌和癌前病变中 PTEN、Survivin 的表达及临床意义[J]. 临床与实验病理学杂志,2015,24(10):1153-1156.
- [6] 李艳东,雷海梅,周永莉,等. 胃腺癌中 survivin 和 EGFR 的作用及其相互关系[J]. 山西医科大学学报,2014,45(9):839-842.
- [7] 赵东菊,石太新,王艳蕊,等. 儿童急性白血病促凋亡蛋白 Smac、HtrA2 表达的意义[J]. 中华实用儿科临床杂志,2015,30(3):207-210.
- [8] 张小玲,田志逢,王萍,等. KLF5 和 Survivin 蛋白异常表达与胃癌预后的关系[J]. 临床与实验病理学杂志,2016,32(2):142-145.
- [9] 许天祥,胡江,刘彦恒. Survivin 在胃癌中的表达及其临床意义[J]. 内蒙古医学杂志,2014,46(10):1153-1156.
- [10] 郭霞霞,王郁杰,王瑞勤,等. 胃癌病变过程中 Krfippel 样因子 8 及生存蛋白的表达与幽门螺杆菌感染关系[J]. 中华医院感染学杂志,2015,29(7):1462-1464.
- [11] 田忠成,邵飞飞,党雪菲,等. Survivin 在甲状腺癌中的表达及临床意义[J]. 中国实验诊断学,2014,18(3):390-393.
- [12] 韩国达,白希永,陆志良,等. 凋亡抑制蛋白 Survivin 在胃癌中的表达及与预后的关系[J]. 中国现代医学杂志,2015,25(8):29-33.
- [13] 殷舞,莫祥兰,韦海明,等. Survivin、Apaf-1 和 caspase-9 在胃癌腹膜转移中的表达及意义[J]. 广东医学,2014,35(2):221-223.
- [14] 李冬斌,许香梅,张伟,等. 胃癌组织 Survivin、RHAMM 表达及意义[J]. 山东医药,2016,56(28):53-54.
- [15] 邢春瑶,陆维春,周家文. Bcl-2 和 Survivin 在宫颈癌中的研究进展[J]. 中国实验诊断学,2014,18(1):167-169.
- [16] 叶闻远,欧阳学农,余宗阳. 非小细胞肺癌 XIAP 和 Smac 的表达与临床病理特征及预后的关系[J]. 中国肿瘤临床,2014,9(7):444-448.
- [17] 曲贝贝,左金华. 凋亡抑制基因 Survivin 的研究进展[J]. 中华临床医师杂志:电子版,2014,9(15):2842-2846.

(收稿日期:2017-05-06 修回日期:2017-07-05)

(上接第 2405 页)

参考文献

- [1] 柯培锋,刘冬冬,徐建华,等. 全自动生化分析仪携带污染的发现及其解决方案[J]. 广东医学,2014,35(11):1728-1730.
- [2] 李叶静. 观察生化试剂对循环酶法测定血清总胆汁酸的干扰因素分析以及改进措施[J]. 检验医学与临床,2016,13(16):2330-2332.
- [3] Szabo Z, Klein A, Jakab C. Hematologic and plasma biochemistry reference intervals of healthy adult barn owls (Tyto alba)[J]. Avian Dis,2014,58(2):228-231.

- [4] 顾光煜,张葵. 临床化学自动分析的携带污染与解除[J]. 临床检验杂志,2007,25(6):401-403.
- [5] 李俊立,杨叶子,王昌富,等. BECAMAN DXC800 生化分析仪携带污染的纠正措施[J]. 临床输血与检验,2012,14(4):311-313.
- [6] 赵利,陈红娟. 试剂交叉污染对生化分析仪测定总胆汁酸的影响[J]. 包头医学院学报,2016,32(5):155-156.
- [7] 李海聪,方欢英,陈智瑾,等. 脂类物质对血清总胆汁酸检测的干扰和携带污染分析[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(11):1407-1409.

(收稿日期:2017-05-05 修回日期:2017-07-04)