

Analysis of the errors of several biochemical inspection equipment and their causes

Liu Ying Zhu Minwen*

Wuhan University of Bioengineering, Wuhan

Abstract: This paper briefly analyzes the causes of systematic errors of different biochemical analyzers and their treatment methods.

Key words: Inspection equipment; Biochemical detection system; Systematic error analysis

Received: 2019-07-14 ; Accepted: 2019-08-05 ; Published: 2019-08-10

浅析几种生化检验设备的误差及其原因

柳英 朱敏文*

武汉生物工程学院，武汉

邮箱: mwzhu239@sina.com.cn

摘要：本文简要分析了不同生化分析仪系统误差产生原因及处理方法。

关键词：检验设备；生化检测系统；系统误差分析

收稿日期：2019-07-14；录用日期：2019-08-05；发表日期：2019-08-10

Copyright © 2019 by author(s) and SciScan Publishing Limited

This article is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



生化检测系统是指完成一个检测项目所涉及的仪器、试剂、校准品、检测程序、保养计划等组合。文献报道，不同的检测系统对同一项目检测存在较大误差 [1] [2] [3] [4] [5] [6]，为减少这种误差，应从理论着手，准确理解检测系统，理论联系实际才能提高检测的准确性和稳定性。我们参考有关文献，结合实际，试图对不同检测系统的误差作理论分析和实际探讨，从中找出原因，解决问题。

1 仪器

不同品牌的生化分析仪，尽管机械、光学、电子等设计大致相同，但所用原材料、工艺水平和细微设计的差别，同一项目、同品牌试剂各有自己的检测程序、保养计划，不同品牌的生化分析仪就会有明显不同的结果。即使同品牌不同型号，也会产生很大误差。比如光学部分，有的用石英材质光栅，有的则用薄膜或干涉滤光片，再加上工艺水平不同，波长会产生很大差异，如光距不等、带宽不同，杂光不一等，这些都会导致检测线性和范围不同而出现结果偏差；又如光电探测分辨率，有的达 0.0001 吸光度 (A)，而有的仅为 0.001A [7]，两者相差 10 倍，其线性和灵敏度当然不同。尤其对于偏低或偏高的结果，差异

更加明显；再如透射比浊法，在相同条件下由于光距不同，A会产生明显的差异。我们用分光光度计，用同一悬浮液比浊，长光距的A明显高于短光距的A；又如用同一悬浮液，分别用散射法或透射法，前者重复性和准确性明显优于后者。因为前者是根据颗粒大小，产生光的吸收，折射、偏射、反射、散射和衍射复杂光学原理呈不稳定性。散射法由于受光器呈夹角，其检测原理不同于透射法，它是根据颗粒散射的特性而设计的，避免了杂散信号的干扰，检测结果明显优于透射法。由于机械加样器的精密性和稳定性的差异，同一标本在同一仪器也可产生不同的结果。再如电子部分的设计思路、结构、电子材质及工艺水平，信号转换及放大的不同，同样也会影响检测的准确性和稳定性。我们用同一混合血清，曾在流动池式生化分析仪上检测白蛋白的重复性，发现20次结果呈S型。因此为减少检测系统的误差，仪器的精密度和稳定性是极为重要的。

2 试剂

不同品牌、不同组方、不同材质和不同工艺水平的试剂，也可能使有的检测结果产生明显差异。一般说来，生化试剂大致分为化学试剂（蛋白、胆红素等）、酶试剂（胆固醇、甘油三酯等）、基质液加工具酶试剂（谷丙、谷草转氨酶等）；免疫试剂（载脂蛋白A、B、C反应蛋白等）；如按方法学可分为终点法（蛋白质、胆红素等）、二点法（苦味酸肌酐）、负反应速率法（谷丙、谷草转氨酶）、正反应速率法（碱性磷酸酶、肌酸磷酸激酶）、非线性多点法（载脂蛋白A、B、C反应蛋白）。说明书对每个试验都有具体说明，如试剂贮藏的温度、方法、时间、使用方法和具体要求等。试剂空白A是检查试剂质量的一个指标。原则上A上升的试剂，空白A越低越好，为了保证反应的灵敏度和线性范围，试剂空白A不能超过一个高限。如GGT、ALP、AMY、CK空白A应 ≤ 0.6 ，TG、CHO、Glu应 ≤ 0.08 ，A下降反应的试剂空白A应不低于低限，如ALT、AST、BUN等空白A应 ≥ 1.0 。有的为控制试剂的质量，用标准液A减去试剂空白A的差值的 $\pm 20\%$ 作为控制质量的一种手段。尽管试剂商已对每种试剂进行了全面实验，也有具体说明，但为了保证检验质量，实验室好对每种试剂的反应时间、样品体积、试剂体积及比值[7]、线性及线性范围、稳定试验、回收试验等通过优

质控血清进行验证，并用正常或病理血清作比对，符合要求后才能应用于临床。免疫试剂由于反应原理的本质是抗原抗体反应，一是涉及抗原抗体的比例及抗体质量，抗体过量会发生前滞现象，抗原过量会产生钩状效应的后滞现象，两者都使浊度下降而出现不稳定结果；二是生化仪免疫检测一般是非线性多点透射比浊法，而比浊是一种不稳定的颗粒性悬液，当一束光通过悬液时，会因产生吸收、折射、反射、散射和衍射而影响 A 的稳定。正是由于二者的不稳定，免疫检测结果误差也在所难免。我们观察到用同台生化仪，同一免疫试剂，同一标本，多次重复，稳定性实在太差。若作稀释测定，倍数越大则结果越高。

3 校准品

校准品是生化检测的衡量标准，要求特别严。校准品有化学类如葡萄糖、尿酸等，生物类如蛋白质、酶类等。化学类要求用优质纯，生物类要求就更高了，大多都由公司提供。有的全用优质质控血清作为各项目的标准品。因此用质控品校准时，一定要用同品牌试剂和同品牌（高、中、低）质控血清定值，然后再用正常或病理混合血清（高、中、低）核对，或与兄弟实验室作比对，或参加大范围质控后再作校正。如此一来，结果准确性就有了依据。我们曾用 A 试剂与 A 质控血清或 A 试剂与 B 质控血清校正，发现同系列试剂与不同品牌质控血清有较大差异，有的十分明显，如 ALP 活性只有 B 质控血清说明书标定的一半。这可能是各商家所用的动物血清、制作方法、防腐剂及剂量不一样而引起检测结果不一样。

4 检测程序

检测程序包括主、次波长的选择和核查。为了获得单色光，有的仪器用全息衍射光栅，少数用玻璃棱镜的单色光器，波长连续可调，可准确选择吸收峰对应的波长。为了去除内源性干扰，提高特异性，一般用主、次波长，其模式有三种：①取吸收峰对应的波长为主波长，吸收光谱曲线对应波谷为次波长；②取与浓度有关的吸收峰对应波长为主波长，与浓度无关的吸收峰对应波长为次波长；③取与产物吸收峰有关的对应波长为主波长，与空白试剂吸收峰对应

的波长为次波长。目前大多用①、③两种。现在不论是半自动还是全自动生化仪大多采用干涉滤光片，一般配有6~8种波长，高档大型全自动生化分析仪配有13种波长。此时测定波长只能选择距吸收峰近者。比如，双缩脲总蛋白测定吸收峰为550nm，即可选择相近的540nm为主波长，660nm为次波长。有的项目A较低或是悬浮颗粒，如果主次波长选择不好，检测结果会有很大误差，有时甚至会出现负值；样品体积、试剂体积、稀释液体积都有严格规定。一般来说样品体积与总体积都有一个SVF比，如ALP为1/26，GGT为1/11。在透射比浊中，为了降低非特异性干扰SVF应 $<1/29$ 。如果SVF稍有变动就会造成重复性不良。特别是CK检测稀释效应十分明显，SVF微小变动就会导致结果的明显变化。所以试剂商对每种试剂都有一个样品体积与总体积间的比，这是不能随意改动的。如果改动，线性及线性范围会产生偏离，影响结果的准确性。反应的温度、起始点、间隔时间和终点是有科学依据的，它是选择在生化反应的佳时段。若要改动，必须做大量实验才能确定。速率法还要考虑正、负反应。负反应K值设为负，正反应K值设为正，否则适得其反。计算公式，如终点法、速率法、非线性多点法，都应选择相应的计算公式。只有明白了这些道理，才能理解检测程序的重要性。尽管各种试验都有说明，但由于仪器、试剂和程序等的不同，其结果必然有所不同。因此要对每个试验的检测程序进行全面分析和核查后才能确定。为了确保检验质量，即使做了上述工作以后，也要不间断地观察分析，发现问题及时修正（K值）。

5 保养计划

保养计划是指仪器开机前后的各种保养措施。主要是指电压、电流的稳定性；实验室温度、湿度是否符合要求；仪器与LIS是否匹配、加样针是否到位、排污系统是否通畅；仪器的光源系统如灯泡是否老化、灯位是否标准、光源窗口是否有灰尘；反应槽的水介质或油介质是否符合要求。尤其是反应杯的洁净度至关重要。因为它是生化反应的容器，其洁净度和杯壁光洁度是保证光通量是否能正常通过的关键。如果达不到要求就会有严重的正、负干扰，影响结果的准确性和重复性。若这个项目有污染，就会严重影响另一个项目的结果，为

了排除污染的干扰,就必须重新设置检测顺序 [8] [9]。尤其值得大家重视的是反应杯的湿度问题,即仪器检测完毕后反应杯处于抽干状态,由于水份蒸发,杯壁干燥,次日开机加入试剂时,因试剂(葡萄糖、胆固醇等)与杯壁的液体切变关系而产生小气泡,此时空白 A 大为提高,当第二次加入试剂,由于杯壁湿润切变率改变,试剂与杯壁小气泡消失, A 恢复正常,使得两次空白 A 差异过大,仪器就会报警或停机 [10] [11]。

6 讨论

检测系统所涉及的仪器、试剂、校准品、检测程序、保养计划等是保证检测重复性和准确性关键的问题,涉及的内容不仅多,而且广。如何理解和掌握检测系统的重点和要点,保证检测结果的稳定和准确性显得尤为重要。

6.1 仪器

6.1.1 误差原因分析

大家公认的日立系列、奥林巴斯系列、贝克曼系列等,尽管这些都是品牌仪器,但实践表明,相互间的差异还是存在的,有的项目还是很明显的。若是同系列,尽管型号不同,从理论上讲应相差无几,但事实并非如此,我科两台日立系列生化分析仪的 26 个项目的 K 值,相互间误差达 46% ~ 223%。特别是 APOA1: 7180K 值为 -12214, 7060 为 -20645, 7060 是 7180 的 169%; FMN: 7180K 值为 8800, 7060 为 19640, 7060 是 7180 的 223%; ALB: 7180K 值为 627, 7060 为 290, 7180 是 7060 的 216%; TB: 7180K 值为 20695, 7060 为 14110, 7180 是 7060 的 147%; DB: 7180K 值为 5426, 7060 为 3710, 7180 是 7060 的 147%。这些误差原因是多方面的,有些误差可以通过校准品校正,但仪器固有的误差是无法克服的,只有通过仪器选择才能解决。

6.1.2 处理方法

对各品牌的仪器要做到心中有数。首先仪器的整体质量只有通过品牌选择才能实现。其次要获得检测结果的准确性和重复性,就必须按照标准文件(NCCLS) EP-A2 方案找出原因所在,必要时进行相应的基础性验证和 K 值校正,

仪器间的检测误差才能降低程度。

6.2 试剂

6.2.1 误差原因分析

目前市场上品牌很多,就一般项目而言问题不大,重点是考虑特殊项目和新项目,比如免疫透射比浊类和酶类项目。因为比浊类项目本质是抗原抗体反应,为了兼顾灵敏度和特异性,就要选择合适的波长,若要保证抗原抗体复合物直径 \geq 入射波长,这就要求缩短波长;若要使内源性干扰大分子直径 $<$ 入射波长,则要求加长入射波长,这是一对矛盾。为了解决这对矛盾,各家试剂全都用了免疫增强剂,由于种类、质量、剂量和工艺水平的不同,波长的选择差异很大,因此检测结果误差较大;又如酶活性测定,其活性不仅取决于酶的浓度,而且还受基质的浓度、PH、温度、离子强度、激活剂和抑制剂等多因素影响。因此酶活性测定具有很强的试剂组方和方法学的依赖性,这是酶活性测定存在的主要问题。如果检测试剂中任何一种因素改变,均可导致酶活性检测结果的改变。

6.2.2 处理方法

与仪器一样,首先是选择问题。重点是考虑批间差、准确性和稳定性。如果批间、批内差过大一定要找出原因,千万不要不加分析和考虑就出结果,发报告。特别是免疫透射法和酶类测定。即使同品牌不同批号的试剂也有差异,应当前后对照,发现问题立即纠正。千万不能把A品牌的试剂用在B品牌的仪器上去,反之亦然。新旧试剂好不要混用,过期试剂应当弃去。

6.3 校准品

6.3.1 误差原因分析

校准品、质控品和参考物均为人为处理过的样品,有的用动物血清如猪血清、牛血清等,其特征与人源样本有所不同,再加上防腐剂和制作方法的不同,检测时会产生基体效应,这种效应如果显著,不加分析就引入校准系统就会产生偏倚现象[12]。实验表明,同一校准品在不同的检测系统上的校准值也有所不同。即使定值质控品,在不同检测系统的赋值也不尽相同。

6.3.2 处理方法

校准品好选择与人源样本接近的品牌校准品，而且一旦选定就不得随意更改。为了保证检验质量，要严格按照要求进行操作，如复溶剂、复溶时间、复溶温度及使用期限等；化学校准品由于商家的试剂选择等多种因素也存在较大差异，因此要相互比较才能确定。一般来说，校准品要与室内质控物和标本同时测定，以观察结果的稳定性和准确性，若有失控，找出原因，随时纠正。

6.4 检测程序

6.4.1 误差原因分析

一般商家给定的检测项目程序是有严格的标本 / 试剂比等参数的，这些参数是根据仪器、试剂、和校准品进行多次实验后才确定的。因为这些参数，一是受测定方法的制约；二是受朗伯比尔定律的制约；三是受光电分辨探测器及线性的制约。因此检测程序是由多种因素决定的，其中一种因素变化就会引起检测程序的变化。所以尽管同品牌同型号的仪器应用相同的检测程序，误差还是存在的，有的项目误差还是很大的。

6.4.2 处理方法

检测程序一般都是根据仪器品牌、型号和试剂而确定的。但对自建检测系统来说，一定要依据商家给定的标本 / 试剂比等参数进行实验，测定其线性和范围以及稳定性、准确性和重复性等。要重视非线性的多点试验，如免疫学的透射比浊法，由于是颗粒性悬液，呈非线性，若不作上述试验，检测结果误差就很大。特别要引起重视的是酶活性连续监测，它是监测酶促反应的初速度，假如该反应是负反应，若酶活性过高，在实验读数的起始期间，就将底物耗尽，那么高活性样品的伪低结果将混入正式报告中。对此，我们是有沉痛教训的。当然，高档的生化分析仪遇到酶活性过高的标本就会自动稀释，重新测定，以防出现伪低结果。

6.5 保养计划

6.5.1 误差原因分析

保养计划在整个检测系统中显得特别重要。因为任何精密仪器都可能由于

保养不佳, 不仅造成检测结果误差, 而且准确性和稳定性都会明显下降, 同时也会造成仪器使用寿命的缩短。我们认为重要的是: ①反应杯问题。因受化学、生物及反应产物的污染, 杯壁透光率下降, 检测灵敏度就下降, 结果重复性就差。如果清洗不到位, 久而久之就会超出仪器设定的范围而报警或停机; ②光源问题。仪器光源大多数用卤素灯泡, 而且有使用期限, 若过长地使用, 不仅光通量下降, 而且光源也不稳定, 这对结果的准确性和稳定性会产生很大影响。

6.5.2 处理方法

仪器保养应当有日保养、周保养、月保养。重要和工作量大的是反应杯的保养。不同品牌的仪器, 反应杯保养的要求和标准都不一样。日立 7180 生化仪反应杯的 A 基准为 9000 ~ 11000。大 A 应 <18000, 各反应杯间 A 应在 -800 ~ 800, 超出此范围, 仪器就会报警或停机。此时应用日立清洗液浸泡清洗, 达标后才能应用。如果反应杯保养不到位, 检测准确性和稳定性肯定会下降而出现不理想结果。另外, 当反应杯基准 A 接近和超过大 A 时, 还要考虑灯泡是否老化予以更换, 光源窗口有否灰尘、反应槽的水介质或油介质有否污染等诸多因素。

总之, 要保证检测结果的准确性和稳定性, 涉及的面的确很广, 有时单方面处理不行, 还要综合处理才能收到效果。就目前而言, 对不同品牌的仪器, 应选择相匹配的试剂和校准品, 组成一个相对稳定可塑源的检测系统, 才能获得可靠结果。

参考文献

- [1] 初开秋, 任立晟, 田清武, 等. 同种项目在不同生化分析仪测定结果的倚评估与可行性研究 [J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29 (9): 853.
- [2] 林莉, 黄宪章, 庆俊华, 等. 不同检测系统测定总胆汁酸的批试验 [J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27 (6): 484.
- [3] 黄娟, 黄享建, 李萍. 不同生化检测系 CAP 能力验证结果的差异性研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2007, 22 (1): 44.
- [4] 邱玲, 程歆琦, 刘荔, 等. 多台生化分析仪多项目同时进行比对的实验 [J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30 (9): 1001.

- [5] 张秀明, 李炜焯, 郑松柏, 等. 不同检测系统 17 项常规生化结果的比对和偏移评估 [J]. 检验医学, 2007, 22 (2): 166.
- [6] 徐宁, 罗强, 曹永坚, 等. 日立 7170 生化检测系统检测项目的溯源 [J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27 (12): 1065.
- [7] 李红梅. 浅析生化分析仪标本 / 试剂比参数改动的制约因素 [J]. 现代检验医学杂志, 2007, 22 (4): 54.
- [8] 缪怡, 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.
- [9] 李平, 李耀峰. 生化检验项目存在问题及对策 [J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28 (8): 748.
- [10] 胡柏成, 等. 日立 7060 全自动生化分析仪两侧故障分析与处理 [J]. 医疗设备信息, 2006, 21 (9): 115-116.
- [11] 胡柏成, 等. 日立 7060 全自动生化分析仪反应杯简易清洗程序的建立 [J]. 医疗设备信息, 2007, 22 (2): 103.
- [12] 李熙建. 校准和溯源在提高临床生化检验质量中的应用 [J]. 现代检验医学杂志, 2008, 23 (3): 113.