

· 案例分析 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.23.051

1 例血清镁测定干扰排除分析*

潘仁智, 吴雪芸[△], 顾宁[▲]

(江苏省南京市中医院医学检验科 210001)

关键词:交叉污染; 镁离子; 临床检测

中图分类号:R446.1

文献标志码:C

文章编号:1672-9455(2018)23-3636-03

在实际工作中,部分检验人员只注重检验结构是否正确,而对检验结果的临床意义没有进行深入思考;或只知道在自动化仪器上按仪器说明书操作,而对试剂、底物及影响因素、临床意义尤其是实验及检测原理知之甚少,有时检测结果甚至会导致临床医生的误解^[1]。以上都是检验科工作中必须注意改进和提高之处。笔者对工作中 1 例试剂交叉污染对血清镁测定产生干扰进行分析,设计实验排查解决干扰,并由此引发一些思考,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 生化室接收的 1 例心血管科急诊血液标本。离心后标本中度溶血。编号扫码上机检测。结果如下:血清钾(K)4.9 mmol/L,血清钠(Na)139.7 mmol/L、血清氯(Cl)106.0 mmol/L、无机磷(P)2.39 mmol/L、血清钙(Ca)2.1 mmol/L、尿素氮(BUN)1.7 mmol/L、肌酐(CR)28.2 mol/L、总蛋白(TP)40.4 g/L、清蛋白(ALB)29.3 g/L、胆固醇(CHOL)2.98 mmol/L、三酰甘油(TG)0.6 mmol/L、天冬氨酸氨基转移酶(AST)19.3 U/L、丙氨酸氨基转移酶(ALT)3.5 U/L、碱性磷酸酶(ALP)290.2 U/L、乳酸脱氢酶(LDH)390.1 U/L、谷氨酰转肽酶(GGT)103.1 U/L、总胆红素(TBIL)106.9 mol/L、直接胆红素(DBIL)15.2 mol/L、血清镁(Mg)2.09 mmol/L、葡萄糖(GLU)5.2 mmol/L。工作人员查看当日质控在控,便注明中度溶血,报告发出。临床反映血清 Mg 结果与临床症状不符,提出疑问。工作人员以溶血有可能对血清 Mg 测定造成影响为借口草草应付了事。临床医生虽勉强接受,但仍半信半疑。问题反映到笔者处,引起高度重视。

1.2 方法

1.2.1 解决问题 积极与临床沟通,了解病情。同时单独复查血清 Mg,结果正常,血清 Mg 为 0.85 mmol/L,与另一台仪器比对良好。笔者马上与临床医生取得联系,了解患者情况并进行客观分析,综合分析判断为实验原因。

1.2.2 原因分析 检查贝克曼 AU5820 仪器状态、水质正常。Mg 试剂批号上海德赛公司 24212 未更

换,且早上刚定标通过。再次两台仪器全项复查及单项复查同时进行。结果两台仪器比对无异常,但全项检测时血清 Mg 和单项检测血清 Mg 差异巨大。笔者推测可能是试剂间的交叉污染所致。

1.2.3 排查交叉污染 首先查看仪器关于项目通道的参数设置,发现测定血清 Mg 之前的项目由近及远分别是 ALP、GLU、UA、P、CA 等。查阅文献,结合该份样本所做项目,选取同是内圈的可能存在试剂间交叉污染的 TG、GLU、ALP、P、UA 等几个项目进行交叉污染实验^[2]。进样架 1 的第 1 个位置为 TG,后面紧接着进行 5 次血清 Mg 测定;同样的实验设计来分别检测 ALP 和 GLU 对血清 Mg 的实验干扰。多份样本的混合血清测定 10 次,测得血清 Mg 作为靶值。然后,每个位置的血清 Mg 测定值与靶值进行偏差计算^[3],偏差率=(测定值-靶值)/靶值×100%。偏差率大于 4%来筛查对血清 Mg 测定的交叉污染。结果发现,GLU、ALP 对血清 Mg 有污染,偏差率分别高达 29.2%、30.9%。同时发现 TG 对血清 Mg 有负向干扰,偏差率为-15.3%。见表 1。

表 1 试剂交叉污染试验结果(mmol/L)

测定顺序	测定次数					
	1	2	3	4	5	6
测 TG 后测去离子水 Mg	0.01	0.00	-0.01	0.01	-0.01	0.01
测 TG 后测混合血清 Mg	0.53	0.61	0.68	0.66	0.65	0.67
测 ALP 后测去离子水 Mg	0.41	0.1	0.03	0.00	0.01	-0.01
测 ALP 后测混合血清 Mg	0.91	0.75	0.68	0.65	0.66	0.67
测 GLU 后测去离子水 Mg	0.77	0.03	0.02	0.00	-0.01	0.01
测 GLU 后测混合血清 Mg	1.31	0.92	0.73	0.67	0.65	0.67

1.2.4 解决办法 根据贝克曼 AU5820 全自动生化分析仪有内外两圈比色杯的特点,将对血清 Mg 有污染的项目分别放在内外圈。由于贝克曼 AU2700 分析仪没有内外圈之分,因此只能调换测试顺序,将对 Mg 有污染的项目间隔开。如果发现样本检测项目较多,不能确定血清 Mg 测定之前的项目是否对测定造成干扰,就应该对其进行单独检测。以彻底避免潜在

* 基金项目:“十三五”南京市医学科技创新平台重大项目(ZDX16009)。

△ 通信作者,E-mail:njwxyun@163.com; ▲ 共同通信作者,E-mail:guning@medmail.com.cn。

的可能对血清 Mg 测定造成的试剂间的交叉污染。

2 结 果

项目调整完成后,对仪器进样针、试剂及搅拌棒、比色杯进行清洗及光电比色保养。重复上述实验,结果满意。

3 讨 论

生化检验结果是临床诊治的重要依据,对于疾病的诊断、病情的发展、治疗效果及预后十分重要。然而,生化检验在分析前、分析中甚至分析后的全过程都经常会受到诸多因素影响,降低了检验结果的准确性。因此,实验人员要高度重视出现在检验过程中的各种影响因素,并加以分析,采取措施,针对防范,确保检测准确可靠。

一般来说,分析前的标本因素是对结果影响较大,如黄疸、脂血、溶血标本及血凝块等^[4]。此时,就需要对影响结果的因素进行分析并尽可能去除干扰。临床较为多见的是黄疸标本。血清中胆红素是一种天然的还原剂,它能中和反应过程中的中间产物,或者直接中和试剂中氧化性成分,导致试剂不足的表象或中间产物的消耗,对基于还原型辅酶Ⅱ脱氢或重氮反应原理的生化项目产生负干扰^[5-6];其次胆红素极不稳定,容易自行氧化,引起本底吸光度的改变,从而导致准确性受到影响。此时,一定要充分考虑待测物质和干扰物质的特性,避免使干扰幅度增强。而血清中的脂质颗粒会造成血清混浊^[7-8]。而血清中的脂质经常使检测结果偏高。对于怀疑影响检测的脂类标本有必要预处理。通常是普通离心后再低温高速离心。由于脂质密度较轻,漂浮于上层,将其弃之,吸取下层的血清进行检测。经过以上处理,大部分干扰可得到相应纠正。另外,标本凝块也较为常见,采血后混匀不完全,导致血小板局部聚集或产生血凝块^[9];而使用促凝管时,如果血块收缩不完全,不仅血清产量低,还会形成潜在纤维蛋白,造成仪器加样针堵塞,影响检测结果。因此,工作中应统一使用促凝管,提醒抽血护士及时混匀,及早分离血清。

试剂是实验中的主要影响因素。例如开瓶有效期,以及瓶间差、批间差等。所以在选用试剂盒时,要注重试剂的质量。必须对试剂盒说明书中提供的线性范围等参数作认真评估,以确认其质量及有效物质浓度。每天都应按照 SOP 标准,检查试剂空白,消除试剂储存不当、污染等原因造成的试剂空白变化及线性范围变化。一旦发现试剂空白读数较平时有大的变化,就应及时更换,并应再次检测试剂空白。每次更换试剂,都应检测试剂空白。一般来说,这类问题可由校准及室内质控来发现、纠偏并解决。而反应过程中的底物耗尽这一影响因素容易被忽视,特别是酶类检测。人体器官在受到严重损伤时,会释放大量的酶进入血液^[10]。急性肝炎时 LDH、GGT、ALP、ALT、AST 等酶类会急剧上升,达到平时水平的几十

甚至几百倍;而急性胰腺炎时,淀粉酶(AMY)更是会达到正常状态时的上千倍。此时的反应过程中,试剂中该酶的作用底物就会被早早耗尽、而出现血清中酶过剩的现象。反映在检测结果上表现为血清酶活性大大低于真实值。这种底物耗尽的现象在检测过程中经常发生,却较易被忽略。所以,为了避免这类情况发生,必须加强生化仪监测报警标志的学习,加强异常结果的重视程度,时刻关注反应曲线是否异常。当检测结果出现报警启示时,应及时进行相应处理。在吸光度升高的速率法中,设置合理的吸光度高限;而在吸光度呈下降的速率法中,则应设置合理的低限。这样,当出现底物耗尽,就会出现监测报警旗标。另外,各个吸光度读点应设置在有效酶促反应界限内,出现异常,就应报警,以便及时发现及时处理。轻微的试剂质量下降,仅使线性变窄,此时对酶活性检测影响不大,室内质控也不会出现大的问题。相反,因为底物耗尽,一些极值则容易漏检。

仪器原因也较为常见。全自动生化分析仪在长期使用过程中由于管路老化,冲洗能力下降等因素使得仪器在加样、搅拌、比色、清洗过程中产生携带污染。尤其是试剂间的交叉污染。本案例中,测定血清 Mg 的试剂交叉污染就是仪器试剂间的干扰,一种情况是试剂所含有的某种成分与下一反应体系所要测定的底物有直接作用,或者该试剂中直接含有下一个反应体系所要测定的底物,此时,如果仪器冲洗系统效果不好,则会出现明显的试剂间交叉污染,导致紧跟其后的项目结果出现较大偏差;另一种情况则是,虽然该试剂所含有的成分或中间产物对下一项目不产生直接影响,但所携带的污染会对下一个项目的反应有间接干扰。本案例中血清 Mg 假性升高就是试剂正向污染造成的。对于试剂间的交叉污染,常规做法是调整测试顺序或者中间增加清洗程序。首选是调整测试顺序,效果良好。通常在干扰项目后增加 1 个非干扰项目,或者直接将受干扰项目放在干扰项目之前来达到消除干扰的目的。在进行工作时,要两两之间做交叉污染实验,以避免出现新的试剂间的交叉干扰。要定期对仪器进行保养,清洗加样针、试剂针以及所有清洗管路,将携带污染降到最低。同时要求检验人员对试剂的成分要有所了解,仔细研究该试剂成分是否会对下个项目产生干扰,并设计实验进行验证,合理安排项目顺序。总之,设置测试顺序一定要了解各个项目的检测原理、方法及试剂成分,充分考虑相邻项目间是否会存在试剂间交叉污染。在具体设置项目时,建议预先做交叉污染实验^[11]。也可以增加生化仪的清洗程序或者用酸碱清洗液交替清洗试剂针和进样针来避免携带污染。但此法会牺牲仪器的检测速度。

目前大多情况下检验人员更多关注如何正确掌握常规检验技术及应用^[1]。特别当结果与临床不符,

需要配合临床,分析病情,查找原因。因此要加强检验人员的培训。不但要注重提高检验质量,甚至与临床充分沟通,分享对检验结果的理解,给临床以充分的支持。尤其要提高实际工作中发现问题、解决问题的能力。要掌握仪器的工作原理和实验原理,以及反应体系的影响因素和注意事项。时刻关注检测系统的性能是否稳定,综合判断结果的正确度和精密度。对异常结果要引起重视,对极高极低的结果必须做出处理,仔细查找原因,及时与临床取得沟通,确认无误后,才能发报告。遇到有疑问的结果要深度分析,不可轻易放过。尽己所能为临床提供准确可靠的检验结果。

参考文献

- [1] 张葵. 尿蛋白质定性定量结果矛盾的解释及其引起的思考[J]. 临床检验杂志, 2012, 30(12): 940-942.
- [2] 邹德勇, 杨晓莉, 丁琪, 等. 全自动生化分析仪试剂交叉污染对血清镁测定的影响[J]. 现代生物医学进展, 2010, 10(8): 1947-1500.
- [3] 邹德勇, 韩彬, 刘洋, 等. 常用生化试剂对钾离子测定的交叉污染分析[J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(16): 3098-

3100.

- [4] 李春蕊. 样本溶血对肝功能检验结果准确性的分析[J]. 当代医学, 2013, 19(33): 32.
- [5] 郭洪晨, 刘静. 胆红素对临床检验结果的干扰及消除[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(18): 1573-1575.
- [6] 陈明坤, 李闻捷, 张建荣. 溶血、脂血、黄疸样本对生化项目检测的干扰机制及消除[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(16): 2272-2275.
- [7] 甄广怀. 不同波长消除胆红素对血清无机磷测定的干扰[J]. 检验医学与临床, 2006, 3(5): 241.
- [8] 刘俊, 黄文红, 付波. 三种消除血浆高脂质浑浊方法对酶类检测结果的影响[J]. 华南国防医学杂志, 2010, 24(1): 42-43.
- [9] 孙良起, 马丽, 王秀丽. 临床检验不合格标本的原因分析及对策[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(3): 281-282.
- [10] 岳展伊, 唐古生, 杜大海, 等. 全自动生化分析仪检测酶活性过程中底物耗尽的监测和处理[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(4): 414-415.
- [11] 周威勇. 全自动生化分析仪检测试剂间干扰避免方法的探讨[J]. 实验与检验医学, 2011, 29(1): 86.

(收稿日期: 2018-06-02 修回日期: 2018-08-18)

· 案例分析 · DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2018.23.052

EDTA 依赖血小板减少 1 例患者

史进¹, 肖婷², 鹿红梅¹, 严乃富¹, 周洋¹

(1. 中国人民解放军第 513 医院检验科, 甘肃酒泉 732750;

2. 中国人民解放军陆军军医大学附属第一医院检验科, 重庆 400038)

关键词: 乙二胺四乙酸; 血小板减少; 血小板凝集

中图分类号: R446

文献标志码: C

文章编号: 1672-9455(2018)23-3638-02

目前对于乙二胺四乙酸依赖性假性血小板减少症(EDTA-PTCP)已有较多报道,普遍的观点认为通过推片镜检发现有血小板凝集可考虑诊断。笔者在工作中遇到 1 例通过自动推片和阅片系统来推片复检漏诊的 EDTA-PTCP 患者,现将结果报道如下。

1 临床资料

胡某,女,36 岁,因“腹痛待查、血小板减少”从当地县医院转诊到陆军军医大学附属第一医院。在当地县医院查血常规(EDTA 抗凝血)显示,血小板 $40 \times 10^9/L$,自诉有鼻出血。转入该院后查血常规(EDTA 抗凝血)示,白细胞 $12.72 \times 10^9/L$ 、红细胞 $3.27 \times 10^{12}/L$ 、血红蛋白 $91 g/L$ 、血小板 $49 \times 10^9/L$ 。仪器采用 SYSMEX XE-2100 全自动血细胞流水线分析系统,报警提示有血小板直方图异常。在除外采血因素后,符合该院检验科实验室制订的血常规推片复检规则(血小板 $< 60 \times 10^9/L$),经自动推片系统制片和自动阅片系统采集图像,见血小板少量散在分布,未见聚集,与仪器结果相符。遂将该报告审核发放,备注

已镜检。临床医生因术前血小板减低且有鼻出血症状,查凝血 4 项:凝血酶原时间,13.9 s;活化部分凝血活酶时间,33.80 s;纤维蛋白原,3.77 g/L;D-二聚体,4.79 g/L,指标无明显异常,请血液科会诊后给予患者重组人血小板生成素注射液 15 000 IU 以纠正血小板减少,次日复查血常规(EDTA 抗凝血)示,白细胞 $12.72 \times 10^9/L$ 、红细胞 $3.34 \times 10^{12}/L$ 、血红蛋白 $93 g/L$ 、血小板 $25 \times 10^9/L$ 。仪器采用 SYSMEX XE-2100 全自动血细胞流水线分析系统,报警提示有血小板聚集。确认标本无凝集后再次经自动推片系统制片和自动阅片系统采集图像,见血小板呈少量散在分布,未见聚集。因检测结果与临床不相符,考虑可能是图片采集系统取材部位不当所致,遂将血涂片取出镜检,发现在血涂片边缘及尾部存在大量成堆、成簇分布的血小板。分别用枸橼酸钠抗凝管与未抗凝的静脉血同时在抽血后立即上机检测,血小板分别为 $896 \times 10^9/L$ 与 $754 \times 10^9/L$ 。患者术中行“腹肠粘连松解+阑尾切除+肠系膜扭转复位+大网膜活检+