

医学检验实习生带教探讨

杨 丽

(新疆医科大学附属中医医院临检中心 830000)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.01.055

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2012)01-0114-01

检验医学是一门理论与实践紧密结合的学科,各医学院即将毕业的大学生都会安排临床实习,使学生在走上工作岗位之前,更多地了解相关知识,更好地将理论知识运用,并付诸于实际操作中,在运用中不断发现问题、解决问题,循环往复,不断地更新知识,提高自己。随着自动化的提高,临检中心更多地应用先进医学仪器设备,并不断更新,但并不意味着手工操作被淘汰,很多项目还是使用手工操作来检测^[1]。手工项目的检测对于学生来说,各方面要求更严格,怎样使医学检验实习生们更好地进行手工操作项目的检测,作者在带教医学检验实习生实践过程中根据带教经验,尤其是手工操作项目,总结了以下几点体会。

1 工作态度

针对目前 80、90 后学生的特殊状况,主动动手能力的减弱,首先要从思想上能够意识到目前的工作要做到积极主动,在真正的实践中才能够发现问题,了解各项的检测原理、结果判断,出现问题的原因分析,针对操作中每一步骤的要求及规范程度,从根本上解决学生初始工作时的意识状态,为以后从事科学研究打下坚实的基础;时刻严格要求自己,注意操作细节,任何一个步骤的不规范操作都会影响实验结果,进而影响患者。因为每一项检测针对的都是每一个具体的个人,在医学工作中是不允许犯错误的。有一点点的差错都会影响到患者的心身、治疗,甚至是生命。因此,从重视工作态度入手是至关重要的。

2 熟知原理、检测过程

检验项目的检测,结果的正确分析,检验原理的认识是至关重要的。每一步骤的进行都与原理分不开,只有了解实验原理才能够对整个实验步骤作出分析,将每个步骤的影响因素降到最小,保证实验的成功进行。在检测操作时,每一步骤紧密联系,熟知项目检测步骤,使实验紧密进行,不能因查询实验步骤影响实验结果。对于实习生来说,熟知检测过程才能够发现及分析结果时每一步骤的操作正确与否。

3 规范基本操作

进入实际工作中,会遇到各种各样的问题,实验的成功与失败与检测者对实验的原理及具体操作是否规范有着直接的关系,对于基本操作的规范训练,李丽华等^[2]在临床带教的方面也特别注重,本人在实际带教中遇到以下问题。

3.1 移液器的使用 垂直滴加与斜角度滴加对实验结果的影响,而不同的角度对实验结果又会有影响。

3.2 加样头使用 虽然目前医疗机构都使用一次性物品,污染的概率明显降低,但是在实际操作中不进行规范操作的时候,污染问题不可避免。加样头不允许手直接接触,当在装载加样头时,换戴干净一次性手套,避免戴着已接触患者标本的手套进行加样头的装载。加样时,不能接触到加样头的下端,以免引起污染,影响结果判断。

3.3 试剂的使用

3.3.1 试剂平衡 每个检测项目试剂都有适宜的保存条件,只有在这样的条件下才能够维持试剂的稳定性,进而才能保证检验结果的准确性。但是低温保存的试剂在使用时要将试剂平衡到室温,也就是说要由低温上升到室温有一个过程,每一项实验试剂要求平衡温度时间不一,要根据试剂要求及实验室室温条件具体对待,也有可能对其要有所验证及规定。如果不将试剂平衡到室温即开始使用试剂,那么试剂就不能维持其固有的性质而导致实验的失败。

3.3.2 包被板的使用 手工定性项目的检测,通过酶标仪来读取结果,除酶标仪的因素外,包被板的清洁程度对于实验的成败扮演者重要角色,在拿取包被板时,要避免接触包被板底层,尤其不能裸手,以免手部汗渍等黏附包被板,导致酶标仪扫描读数不准确。在洗板时,不能将包被板浸入水中,导致包被板底部干净程度降低,影响结果。

3.3.3 实验结束后读数时间 不同实验滴加终止液后对扫描结果有不同的规定时间,要在规定的时间内将其扫描读数。如果不能按时扫描读数,反应时间过长,导致结果的不可信。

4 室内质量控制

1 项实验的成功完成,保证检测结果的准确性,内部控制起着关键的作用,每批检验都必须与质控品一起进行,只有在符合质控规则在控的规则下,检验结果才是可信的。检验实习生刚刚开始接触实际操作的时候,对于质控的认识微乎其微,因此要进行质控知识的培训,从规则及判断、分析失控原因及纠偏过程、纠偏记录的完成。失控后的处理很重要,在失控的时候,相对应的一批检验标本必须进行抽检或重新检测,在这方面要做到严谨,严格要求学生,使他们有一个好的开始。在对影响因素分析时,要多方面考虑,实验前、实验中、实验后影响着每项实验的成败,实验前患者标本的留取规范、实验中各种影响因素、实验后的分析至关重要,要培养学生的质量控制意识。

5 结果判断

在判断结果时,有很多影响因素,要结合具体临床情况进行综合判断,在滴加终止液以后,严格按照规定时间进行酶标仪读数。酶标仪读数时,首先判断空白对照、阴性对照、阳性对照、质控品扫描结果是否符合要求,从而判断此包被板实验有效性。如果同批包被板阳性对照结果不符合或阴性对照结果超出范围及质控品未在控,应分析原因,找出影响因素,并进行纠偏,进行同批实验结果的有效性评价,否则重新进行同批实验的检测。在其他定性项目结果判断时,要根据阳性对照结果及临床诊断判断结果。总之,不同检测项目有不同的影响因素及判断模式,但是不断加强自己的临床医学知识与检测结果的紧密结合来判断结果,具体问题具体对待,针对不同问题,除带教教师及时发现问题外,更多地教会学生自己考虑、解决问题,积极思考,不断学习,提升自己,培养学生学术上的严谨、科学、注重细节是最主要的。 (下转第 128 页)

降解,因此建议临床标本 HBV-DNA 的储存在 -20 ℃ 以下环境。

2.3 溶血、脂血、黄疸的影响 血红素可以通过其卟啉环与 Taq 酶不可逆结合,从而抑制 Taq 酶的活性,因此从理论上说,溶血标本对 HBV-DNA 的检测有明显的影响。一些实验证明,各种溶血程度的 HBV-DNA 阳性标本进行检测,其结果与未溶血标本差异无统计学意义^[8],原因之一可能是血红蛋白经 100 ℃ 10 min 后,卟啉环已经被破坏,从而不能与 Taq 酶结合或血红蛋白已经变性,经过离心沉淀后,待测上清液中仅存其衍生物。另一原因可能是在提取核酸前,已先用浓缩液经高速离心沉淀 HBV 病毒颗粒并弃去上清,大大减少了干扰物质包括血红蛋白的水平。

理论上,脂血因素可造成 HBV-DNA 的检测结果偏低,主要原因有:脂血因素导致荧光猝灭,使得荧光信号强度降低;脂肪或其代谢产物能与 Taq 酶相互作用,抑制 Taq 酶的活性,扩增效率明显降低,导致检测结果降低。但许多实验证明,高血脂对检测结果也没有产生影响。黄翔等^[9]通过 PEG 沉淀煮沸方法发现,当胆固醇小于或等于 12 mmol/L,HBV-DNA 检测水平结果与胆固醇的水平不相关,说明 PEG 沉淀煮沸方法能有效地去除胆固醇,扩增效率不受影响。尹琦和徐玉婵^[7]发现,三酰甘油(TG)达 45.96 mmol/L 时,对检测结果也没有产生影响。造成脂血对 HBV-DNA 检测水平结果无影响的原因主要有以下几点:有些核酸提取方法能有效去除此类抑制因子;脂血中,TG 的密度低,血清标本在冷冻或冷藏保存后,经高速冷冻,离心,容易漂浮在上层,在弃去上清的时候可以去除大部分;标本处理过程中的多次稀释,干扰作用变得很小。

胆红素对实验的干扰主要在于其本身的光吸收作用,通过对不同水平胆红素标本的 HBV-DNA 测定,未发现有明显的干扰现象。原因可能也与标本处理过程中胆红素丢失和多次稀释有关。

3 核酸提取方法的影响

临床上采用不同核酸提取方法对荧光定量 PCR 技术检测血清 HBV-DNA 结果和抗干扰能力差异很大。不同 HBV-DNA 核酸提取方法对同一临床标本 HBV-DNA 核酸提取效率差异很大。陈晓东等^[10]认为,磁珠核酸提取法应该作为首选方法,其与直接煮沸裂解法和沉淀煮沸裂解法差异有统计学意义($P < 0.01$ 和 0.05);NP240 煮沸裂解法提取效率偏低,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。其中直接煮沸裂解法提取效

率最低,与磁珠核酸提取法相差两个数量级。李金明等^[11]发现,在 HBV-DNA PCR 检测时,煮沸裂解法不适合用来处理血清标本,而应使用核酸纯化方法。梅玉峰等^[12]发现,浓缩裂解液煮沸法在 10^4 、 10^5 、 10^6 、 10^7 四种浓度范围内,比直接裂解液煮沸法测量结果高 20~40 倍。

总之,实时荧光定量 PCR 检测 HBV-DNA 的影响因素很多,应该做到:实验室硬件和软件要达到要求,实验室要通过上一级卫生部门验收才能使用,从而减少污染;选取合适的核酸提取方法;未能及时做的标本放置在一 20 ℃ 以下冰箱保存。2 μL 加样枪的质量也是很重要的因素,2 μL 加样枪不精密、不准确,所得结果重复性和准确性将受到很大的影响。

参考文献

- [1] 吴簧,沈佐君.乙型肝炎病毒基因型的中国国内研究进展[J].国际检验医学杂志,2010,31(7):703-704.
- [2] 梅玉峰,黄敏,陈丽娟.HBV-DNA 阳性乙肝感染者血清学标志物临床分析[J].国际检验医学杂志,2010,31(9):1004-1005.
- [3] 程钢,何蕴韶,周新宇.荧光定量聚合酶链反应检测乙型肝炎病毒[J].中华医学检验杂志,1999,22(6):135-138.
- [4] 周玉宝,刘芳,武易.慢性乙型肝炎患者血清学指标综合评价[J].国际检验医学杂志,2011,32(2):165-166.
- [5] Yokota M, Tatsumi N, Nathalang O, et al. Effects of heparin on polymerase chain reaction for blood white cells[J]. J Clin Lab Anal, 1999, 13(3): 133-140.
- [6] 陶志华,谢耀盛,周武,等.不同标本对荧光实时定量 PCR 法测定 HBV-DNA 结果的影响[J].临床检验杂志,2001,19(6):345-346.
- [7] 尹琦,徐玉婵.影响 HBV DNA 测定的标本因素[J].临床检验杂志,2008,26(4):133-134.
- [8] 郭华国,姚正国.脂血、血红蛋白、胆红素标本对乙肝病毒 DNA 定量测定的影响[J].微循环杂志,2006,16(1):32-33.
- [9] 黄翔,王晖,周志明,等.溶血和脂血标本中乙肝病毒 DNA 提取方法的选择与评价[J].中华医学杂志,2004,28(2):123-124.
- [10] 陈晓东,陶志华,周武.核酸提取方法在聚合酶链反应测定乙肝病毒核酸中的评价[J].中华医学检验杂志,2002,25(4):212-214.
- [11] 李金明,王露楠,邓巍.标本处理对聚合酶链反应测定乙肝病毒核酸的影响[J].中华检验医学杂志,2000,23(6):337-339.
- [12] 梅玉峰,黄敏,危艳顺.浓缩裂解煮沸法在荧光定量 PCR 测定 HBV DNA 中的应用[J].检验医学与临床,2009,6(5):359-360.

(收稿日期:2011-07-20)

(上接第 114 页)

患者无小事,对于每一份检验结果都要重视,它关乎到每位患者的命运,因此做到以上几点至关重要,要培养一个合格的医学生,使他们成功地走上工作岗位,实习阶段带教老师的教学是很重要的。因此,带教老师的工作态度、严谨教学及学术观点等对学生的影响也是很重要的。对于检验实习生,严格地做到以上几点,这是以后工作好的开始。

参考文献

- [1] 余江,王华忠,何学贤,等.临床检验实习生的技能带教体会[J].

检验医学教育,2009,16(3):31-32.

- [2] 李丽华,申志红,叶丹.检验科实习生带教方法探讨[J].检验医学与临床,2009,6(5):393-394.

(收稿日期:2011-10-08)

我刊刊文周期已大幅缩短,欢迎投稿!