

特异性 T 细胞,在受到结核杆菌特异抗原 A 和 B(ESAT-6, CFP-10)刺激后分泌 γ -干扰素($\text{IFN-}\gamma$),从而被微孔板上包被的 $\text{IFN-}\gamma$ 抗体捕获,经酶标志和显色后,每个 $\text{IFN-}\gamma$ 分泌细胞形成一个不溶性色素沉淀斑点,根据斑点数,推测体内是否存在结核杆菌特异性 T 细胞。通常阴性对照没有或仅有很少斑点。阳性结果说明患者体内存在针对结核杆菌的效应 T 淋巴细胞,阴性结果提示患者可能不含针对结核杆菌的效应 T 淋巴细胞,从而对结核杆菌感染进行辅助诊断^[7-8]。T-SPOT-TB 是目前最敏感的检测抗原特异性 T 细胞的方法之一^[9-10]。

李峤珂和吴雪琼^[11]对结核感染组和非结核感染组用 T-SPOT-TB 检测:每 2.5×10^5 个 PBMC,阳性结果抗原 A 孔斑点为 (27 ± 12) ,阳性结果抗原 B 孔斑点数为 (35 ± 1) ,阴性对照斑点 (2 ± 2) ,阴性抗原 A 孔 (4 ± 3) ,阴性抗原 B 孔斑点 (3 ± 2) 。阳性孔和阴性孔斑点数差异很大,易于判断。两种计数方法因为符合性很好,所以不会对结果产生影响。对于检测结果不可判断(灰区)的情况是非常罕见的,可能是由于淋巴细胞没有分泌 γ 干扰素。对于灰区 $(5 \sim 7)$ 个斑点,大概 5 万个细胞才有一个产生 γ 干扰素的 T 细胞,血细胞分析仪计数和人工计数没有那么大差异,所以也不会对结果产生影响。

SYSMEX K-4500 操作简便,效率高,稳定性、重复性好,计数误差可控在 3% 以下,同时,仪器计数还避免了人工计数由于稀释、充池、计数等的人为误差,并大大提高了工作效率,尤其在标本量很大时,大大减少了工作量。手工法虽然能区分被台盼蓝染成蓝色的死细胞和不染色的活细胞,但死细胞比例不高,虽提高了充液量的精准和计数盘的精密度和准确度,但操作较复杂和费时,临床应用时,其变异系数常 15%~20%,所以最好是在自动血细胞分析仪计数不能读数 and 存在疑问时使用。PBMC 悬液脱离了血液的基质,但细胞培养液具有和体内细胞生活条件相接近的培养环境(如 pH 值、渗透压、黏度等),满足细胞生长需要,替代血清的保护作用,PBMC 仍保持细胞性状和活性。本实验结果与彭黎明等^[12]的一致,证明在 T-SPOT-TB 实验过程中的细胞悬液用 SYSMEX K-4500 血细胞分析仪检测和人工法符合性好,自动血细胞分析仪可替代人

• 质控与标规 •

工法来计数 PBMC。

参考文献

- [1] Soysal A, Bakir M. T-SPOT. TB assay usage in adults and children[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2011, 11(6): 643-660.
- [2] 肖倩, 黄旭峰. T SPOT-TB 实验快速检测结核杆菌感染的临床应用研究[J]. 实验与检验医学, 2009, 27(3): 272-273.
- [3] Simsek H, Alpar S, Ucar N, et al. Comparison of tuberculin skin testing and T-SPOT. TB for diagnosis of latent and active tuberculosis[J]. Jpn J Infect Dis, 2010, 63(2): 99-102.
- [4] 隆维东, 彭田川, 江代红, 等. 全自动血细胞分析仪对胸水有核细胞计数的评价[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(15): 1744-1755.
- [5] 王鸿利, 洪秀华. 医学实验技术的理论与应用[M]. 上海: 上海科技教育出版社, 2004: 178-179.
- [6] 冯仁丰. 临床检验质量管理[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2007: 188-210.
- [7] Adams LV, Waddell RD, Von Reyn CF. T-SPOT. TB Test(R) results in adults with Mycobacterium avium complex pulmonary disease[J]. Scand J Infect Dis, 2008, 40(3): 196-203.
- [8] Higuchi K, Kawabe Y, Mitarai S, et al. Comparison of performance in two diagnostic methods for tuberculosis infection[J]. Med Microbiol Immunol, 2009, 198(1): 33-37.
- [9] Metcalfe JZ, Everett CK, Steingart KR, et al. Interferon- γ release assays for active pulmonary tuberculosis diagnosis in adults in low- and middle-income countries: systematic review and meta-analysis[J]. J Infect Dis, 2011, 204(Suppl 4): S1120-1129.
- [10] Sztajn bok FR, Boecha NL, Sztajn bok DC, et al. The challenge of pediatric tuberculosis in face of new diagnostic techniques[J]. J Pediatr (Rio J), 2009, 85(3): 183-193.
- [11] 李峤珂, 吴雪琼. T SPOT-TB 试剂盒在结核病临床诊断中的诊断价值[J]. 实用医学杂志, 2010, 17(26): 3117-3119.
- [12] 彭黎明, 李丽娟, 彭志勇, 等. 几种血细胞仪结果的比对和质控[J]. 中华检验医学杂志, 2000, 23(1): 94-97.

(收稿日期: 2011-12-12)

动脉血气分析的质量控制

王璇, 申丽红, 陈永德[△]

(中国中医科学院望京医院检验科 100102)

摘要:目的 临床动脉血气分析检测影响因素很多,为保障检验结果能真实反映患者身体的状况,特将分析前、分析中、分析后的质量控制加以总结,以确保检测结果的可靠性。**方法** 将动脉血气分析的影响因素细化,结合具体检测工作,总结出影响动脉血气分析检测的质量控制因素。**结果** 严格掌握动脉血气分析的的各项的质量控制因素,可以大大提高检测结果的可靠性。**结论** 注意影响血气分析的质量控制的各项因素,才能将实验数据更好地为临床所利用,同时减少医、患、技的冲突。

关键词: 动脉血气分析; 质量控制; 措施

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 13. 045

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)13-1639-03

动脉血气分析是急症、重症患者病情监测的重要衡量依据之一。因此,结果是否真实反映患者的实际情况显得尤为重要,但由于诸多因素会影响检测结果的可靠性,这些因素可能并非全为医护人员甚至检验专业人员所了解。现作者将工作中出现的一些极易被忽视而又对检测结果稳定性产生重要影

响的因素总结如下,并对将采取的对应措施进行探讨。旨在减少日常工作差错,减少医疗纠纷,为临床提供高质量的检测结果。动脉血气分析指的是包括对患者动脉血 PO_2 、 PCO_2 、pH、BE、 HCO_3^- 等指标的分析过程^[1],真实、可靠的实验结果对重症、急症患者的治疗和监护尤其重要^[2-3],但在整个动脉血气分

[△] 通讯作者, E-mail: wangjingykyd@sina. com。

析中会受到诸多因素的影响^[4-7],如对其任何影响因素不够熟悉,都会对医师评判患者的真实状况产生误导。作者将在实际工作中影响血气分析结果的一系列影响因素作一总结,特与同行们共同分享,以减少日常差错,减少医护矛盾及医疗纠纷,为临床提供高质量的检测结果数据。

1 分析前的质量控制

1.1 患者干扰因素

1.1.1 患者的精神状态、情绪、治疗状态等都会影响测定结果如紧张、疼痛等呼吸急促造成的 pH、PaO₂ 增高^[4,8],瞬间憋气、pH、PaO₂ 降低,吸氧浓度对 PaO₂ 有直接影响。碱性药物、大剂量青霉素钠盐、氨苄青霉素、脂肪乳剂等输入体内影响酸碱平衡。应及时和医护人员进行沟通,采血前要求患者情绪稳定,必要时应用局部麻醉,停止一切剧烈活动;抽血前半小时停止吸氧,停止相关药物治疗,如需吸氧必须注明吸氧浓度。输注乳剂之前或输注 12 h 之后,抽血送检。或是化验单注明此类影响因素,以免造成医、护、技矛盾。

1.1.2 患者体温 体温以 37℃ 为界,增高或降低都会对 PO₂、PCO₂、pH 值产生影响,结果为 PO₂、PCO₂ 同向变化,pH 反向变化。如不在申请单上写明体温情况,会导致检验人员不对机器进行仪器校正,发出错误的报告。对应措施:化验单上注明体温。检验人员可根据体温的具体温度,进入仪器设备中选择相应的温度进行校正得出正确的分析结果。

1.2 标本采集过程中的质量控制

1.2.1 采血器材的影响 塑料注射器采集的标本测定的结果可靠性不稳定;研究表明,塑料器材抽血后 15 min PaCO₂ 就会下降;肉眼不可见的小气泡可牢固地依附于内壁上,难以排除,影响结果可导致:PO₂、pH 增高;PCO₂ 降低。对应措施:可建议采用预成型动脉血气针(如 BD 血气采血器等),减少疼痛,保证不易混入空气。如需反复穿刺的患者可滞留封闭式套管针。

1.2.2 抗凝剂的影响 肝素溶液对血气测定的主要影响是稀释。影响最大的指标是 PCO₂、HCO₃⁻,此外,肝素本身偏酸,也会影响 pH 测定。所以血量的控制尤为重要。对应措施:如自配肝素,应将肝素钠和血液样本的比例控制在 1:20 以下,将肝素湿润了试管壁后一定要将多余的液体弃去或是采用固化好的商业化的肝素管,能减少由于个人技术不同导致的人为误差。但注意血量太多,也可能导致血液抗凝效果不好,产生凝块而影响检测结果。因此,5、2 mL 注射器取血量应控制在 3.3、2 mL 左右。商业化的肝素管则应参照商家说明取血,必要时可做预实验以确定最佳取血量。

1.2.3 采血过程的质量控制 (1)抽血部位的影响:如年老者、幼儿、特殊患者(循环衰竭患者)的抽血部位均会引起血气分析的结果出现变化。对应措施:合理采用取血部位。理论上,全身任何动脉均可。常用桡(消瘦者不适用)、肱、股、足背动脉(下肢活动自如,易配合治疗者适用)。桡动脉适用于一般患者。股动脉:适用循环衰竭,头皮动脉:儿童。颞浅动脉,由于其部位无骨骼肌,适用于破伤风患者。但要注意同一患者最好固定取血部位,以便实验数据的比对。(2)抽血方法的影响:抽血方法不当,如直接抽取动脉血液,会由于负压吸引导致血中的 O₂ 和 CO₂ 溢出,导致检测结果 PO₂ 和 PCO₂ 降低。相应对策:刺入动脉后,一定要借助血压自动将针芯推动,不能直接抽取。抽血毕,一定要将注射器封口严格封闭,这也是在日常工作中接受标本经常发现的问题。(3)血液质量的影响:①动静脉混合。小儿和体弱老人极易混入静脉血,混入静脉血的动

脉血气分析会出现 PO₂ 和 SO₂ 明显下降,而 PCO₂ 分压变化不明显。相应措施为在实际工作中作者发现极明显的静脉血混入动脉血,在外观上就能看出,静脉血是暗红,动脉血是鲜红的。如明显的动静脉混合血可以不用测试,直接和临床沟通,除非只需了解血的酸碱情况,否则需重新抽取标本。微量的静脉血混入动脉血,检验医师可以依据化验的结果进行判定,PO₂ 和 SO₂ 测定结果明显下降,而 PCO₂ 分压变化不明显。处理方法同上。②气泡混入。气泡会使 PO₂ 升高,pH 升高;PCO₂ 下降。相应措施:采血前检查注射器空气是否排净;禁止负压抽血;如有气泡立即排除,而且是在和肝素混匀之前,样本冷藏之前就要排除。③采血后是否搓匀试管,搓匀方法是否能使抗凝剂和血液充分混匀,并保证红细胞不被破坏,也是保证结果准确的关键步骤。相应措施为采集完血液后,立即上下温和混匀血液约 1 min,使血液和抗凝剂充分混合。④标本运送时间。血液抽取后,细胞还在代谢,持续产生 CO₂,尤其对于白细胞增高的患者更为明显,导致 PCO₂ 增高。对应措施为将运送标本的时间控制在 30 min 之内,越快越好。时长超过 30 min 的,需放入冰水中运送,但不能放入冰块里,否则导致红细胞破碎,影响真实的检测结果。注意运送过程中,最好也不断混匀标本。

2 分析中的质量控制

2.1 仪器的保养、定标、的质量控制 仪器需 24 h 处于运行状态,保证仪器处于最佳状态,日常维护保养、定标、质量控制工作完成后进行测试^[9-10]。

2.2 上机

2.2.1 上样方式 测试以急诊方式完成,即随来随测,保证 15 min 内完成,如实在不能完成则需放入冰箱冷藏,切记不能放在冰块上,储存时间也不宜太久(最长不能超过 30 min)。

2.2.2 上样准备 (1)标本需再次混匀:测试前检验人员仍然需要将血液上下、水平温和混匀数次,再上机。因为放置了的标本极易出现血液分层。(2)标本死腔凝血的排除:检验人员上机前一定要将注射器顶端死腔中凝集的血挤出一两滴。注意死腔中的血液即使没有明显凝集也容易形成肉眼不见的微血栓,所以一定要弃去。这对经验不足的新上岗的检验人员尤其容易忽视。血气分析的血量本来就要求不多,如将死腔中的血液上机,此标本本身不代表患者体内血气动态外,还极易堵塞仪器管路造成结果不准,引起仪器损坏。(3)上样量:标本量多时,可将剩余未做的标本放置冰水上保存。血液在进入进样器之后,同时通过玻璃视窗观察泵入的血液,不能有因为进样不连续造成的机器内的微小气泡出现而影响实验数据。(4)上机血量控制:根据仪器说明书控制好上样量,过多血量容易堵塞管路^[4],造成检测误差。可建议两手固定注射器,慢慢推进注射器,控制进样量,千万不要单手操作,打入过多的血液。

3 测定后的质量控制

3.1 仪器维护 测定完一个标本后,要及时擦拭仪器进样孔多余的残留血液。每做 10 个左右标本,手动定标 1 次且冲洗管路 1 次,以保证检测结果的准确,防止仪器操作过程中出现仪器故障。

3.2 检测结果分析 动脉血气结果出来后,检验人员应观察检测结果的各项指标,是否符合临床,对出现诸如 PO₂、PCO₂ 测定值倒置情况时,尤其应该引起重视,此为重症病情的提示。除口头电话和临床沟通外,情况相符时要医护人员及时取回化验结果以免延误患者病情。结果和临床不符时,要及时查对原因,以免误发报告单。

总之,如能对以上各项影响因素熟悉掌握,并能和临床及时进行沟通,一定能大大提高血气分析检测的准确度和可靠性,使结果更真实地反映患者的体内状态,并减少工作上的失误差错,给临床医师的诊疗提供更准确的实验数据。

参考文献

- [1] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3版.南京:东南大学出版社,2003:291-305.
- [2] 钱桂生.动脉血气分析在危重患者救治中的应用[J].重庆医学,2010;739-756.
- [3] 钟南山.临床技术操作规范呼吸病学分册[M].北京:人民军医出版社,2008:74.
- [4] 赵建宏.医学检验标本留取及采集指南[M].北京:中国科学技术出版社,2007:139-143.

• 质控与标规 •

- [5] 丁振若.实用检验医学手册[M].2版.北京:人民军医出版社,2008:502-601.
- [6] 张建秀,王光红.血气分析检验结果的影响因素[J].中国误诊学杂志,2004,4(5):700-704.
- [7] 李锡敬,许柳芹.血气分析的临床应用及质量控制[J].检验医学与临床,2010,7(19):719-723.
- [8] 刘宏.血气分析前的准备[M].北京:卫生部临床检验中心,2000:521-525.
- [9] 彭黎明,王兰兰.检验医学自动化及临床应用[M].北京:人民卫生出版社,2003:459-463.
- [10] 段宝生. ALV Compact2 血气分析仪常见故障及排除体会[J].现代检验医学杂志,2007,1:18-19.

(收稿日期:2011-10-09)

运用极差检验对两个检测系统上糖化血红蛋白结果进行可比性验证

黄保荣,薛 莲,王金松

(湖北省武汉市武昌医院检验科 430063)

摘 要:目的 验证两个检测系统上糖化血红蛋白(HbA1c)测定结果的可比性。方法 依据极差检验可比性方案,选择两份合适浓度的标本在两个检测系统上进行测定,记录测定结果,计算极差,进行比对。结果 HbA1c 浓度为 5.3%时,极差小于临界差值(5%),比对通过;HbA1c 浓度为 11%时,极差大于临界差值,比对失败。结论 两个检测系统上 HbA1c 测定结果无可比性。

关键词:糖化血红蛋白; 极差检验; 临界差值; 比对

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.13.046

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)13-1641-03

据 ISO15189 规定,当同样的检验应用不同程序或设备,在不同地点进行,或以上各项均不相同,应有确切机制以验证在整个临床适用区间内检验结果的可比性,应按适合于程序和设备特性的规定周期验证^[1]。本院不同院区的糖化血红蛋白(HbA1c)的检测分别在 Bio Rad D-10 糖化血红蛋白仪和 Roche Modular P 生化分析仪进行,这两台仪器均通过了美国国家糖化血红蛋白标准计划(NGSP)实验室认证。为验证 HbA1c 在这两个检测系统上的可比性,作者运用了王治国介绍的《极差检验可比性方案》对其进行了比对。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 美国 Bio Rad D-10 糖化血红蛋白仪,德国 Roche Modular P 生化分析仪,均使用两仪器各自配套的试剂、定标液、质控品。

1.2 标本 本院 2010 年 12 月 31 日送检新鲜 EDTA-K₂ 抗凝全血。

1.3 方法 采用极差检验可比性方案

1.3.1 进行精密度估计 精密度估计从长期质量统计量进行估计,至少统计 6 个月的质控数据,分别计算两台仪器两个浓度质控的均值 X_1 、 X_2 和 Y_1 、 Y_2 及变异系数 CV_{X_1} 、 CV_{X_2} 、 CV_{Y_1} 、 CV_{Y_2} ,并计算合成均值和合成变异系数。合成均值 $1 = (X_1 + Y_1)/2$,合成均值 $2 = (X_2 + Y_2)/2$; $CV_1 = [(CV_{X_1}^2 + CV_{Y_1}^2)/2]^{1/2}$, $CV_2 = [(CV_{X_2}^2 + CV_{Y_2}^2)/2]^{1/2}$ 如果 CV_1 、 CV_2 比值小于 2,可使用极差检验可比性方案。

1.3.2 选择比对样本浓度 以高、低质控物各自混合($\bar{x} \pm 20\%$)来计算样本范围,选择两个水平浓度的比对样本。

1.3.3 确定可接受标准 根据“患者结果可比性实验接受准则”^[2],优先选择顺序为:基于临床结果可比性评价,基于临床

问卷可比性的评价,基于生物学变异可比性评价,基于已发表专业推荐的分析性能评价,基于认可机构设立目标的分析性能评价,基于一般能力分析性能的评价,来确定可接受标准临界差值。

1.3.4 确定比对重复次数 根据合成 CV_1 、 CV_2 、临界差值,查极差检验临界差值表,确定两个比对样本重复的次数。

1.3.5 执行比对 按重复测定次数对选定的两个样本进行重复测定,计算极差。

1.3.6 评价两仪器结果的可比性 极差小于或等于临界差值,可得出在评价分析物水平上所有测量系统执行可比性的结论;极差大于临界差值,可得出两个测量系统的可比性不接受的结论。

1.4 统计学处理 应用 Excel 2003 进行数据统计、计算的处理。

2 结 果

2.1 精密度估计,两台仪器自 2010 年 6~12 月室内质控统计见表 1。高、低浓度混合 CV 比值小于 2,可使用极差检验可比性方案。

2.2 样本选择 低、高浓度质控合成 $\bar{x}$ 分别为 5.25%、10.93%,选择合成 $\bar{x} \pm 20\%$ 浓度,即 4.20%~6.30%、8.74%~13.12%为比对样本浓度,作者选择 Bio Rad D-10 上最初值为 5.3%、11%的两个样本作为比对样本 1 和样本 2。

2.3 可接受标准 基于临床结果的可接受标准有的推荐为总误差 1%(1%的报告绝对改变)^[2],但最近研究报道用 HbA1c 诊断糖尿病的切点为 6.5%。HbA1c<6.5%时,“任何程度”的视网膜病变发生率极低;当 HbA1c≥6.5%时,每 0.5%的改变,糖尿病“中度”视网膜病变的患病率显著增高^[3]。1%的绝