

# 血清葡萄糖检测试剂对无机磷测定结果的影响

陈 彬, 许永志, 陈燕红, 刘惠娜, 林淳峰

(解放军第一七五医院/厦门大学附属东南医院检验科, 福建漳州 363000)

**摘要:**目的 探讨在使用全自动生化分析仪检测标本时,血清葡萄糖检测试剂对无机磷测定结果的影响因素及影响程度。方法 通过实验设计,利用全自动生化仪的不同设置,分别测定样本针、试剂针、搅拌棒及比色杯的携带污染对血清无机磷测定结果的影响程度。结果 血清葡萄糖试剂对无机磷测定结果的影响主要来自于试剂针的携带污染。结论 应用全自动生化分析仪检测标本时,虽然具备高速、精确、自动化程度高等特点,但同时存在交叉污染,应根据实际情况设定仪器清洗程序和合理的分析顺序。

**关键词:**交叉污染; 血清无机磷; 全自动生化分析仪

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.19.050

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)19-2600-02

在利用全自动生化分析仪检测血清标本时,血清无机磷测定结果受到多种项目试剂的干扰。其中,选取血清葡萄糖为对象,设计实验通过对样本针、试剂针、搅拌棒及比色杯的携带污染程度的分析,探讨血清葡萄糖对无机磷测定结果的干扰及解决方案。

## 1 材料与与方法

**1.1 仪器与试剂** 仪器为西门子 ADVIA2400 全自动生化分析仪;试剂均为上海复星长征体外诊断试剂盒,葡萄糖试剂为葡萄糖氧化酶法(批号:D1210063),无机磷试剂为直接紫外法(批号:L1112013),校准品为上海复星长征复合校准品(批号:735UN-1)。

**1.2 混合血清的制备** 随机选取无脂血、黄疸、溶血的标本<sup>[1]</sup>,混合制备无机磷正常浓度组(<1.58 mmol/L)250 mL 及高浓度组标本(>3.0 mmol/L)2 mL,充分混匀后,以每份 0.5 mL 的量各自分装,置于-20℃冰箱保存。

**1.3 方法** (1)无机磷真值的测定:生化分析仪充分保养并且校准后,取 P 正常浓度组血清 30 份标本进行检测。去掉第 1 个数数据后,计算平均值( $\bar{x} \pm s$ )作为无机磷的真值( $X_T$ )。(2)样本携带污染对无机磷测定结果的影响:取正常浓度组血清标本 4 份(分别标注 N1、N2、N3)及异常浓度组标本 1 份(标注 H),按照 N1、N2、H、N3、N4 的顺序放置标本后,检测无机磷,重复 10 次,分别计算。样本的携带污染率 =  $(\bar{X}_{N3} - \bar{X}_{N2}) / \bar{X}_H \times 100\%$ 。(3)试剂针携带污染血糖试剂对无机磷检测结果的影响:取正常浓度组混合血清 30 份,每份血清按照葡萄糖、无机磷、去离子水、去离子水(双份去离子水以保证试剂针可以充分清洗)的分析顺序进行检测,去除第 1 份的无机磷的检测数据后,计算 29 份混合血清标本无机磷的平均值  $\bar{X}_R$ 。试剂针携带污染率 =  $(\bar{X}_R - \bar{X}_T) / \bar{X}_T \times 100\%$ 。(4)搅拌针携带污染葡萄糖试剂对无机磷结果的影响:在葡萄糖与无机磷之间增设仪器试剂针自动清洗程序,排除试剂针的携带污染。取正常浓度组混合血清 30 份,每份血清按照葡萄糖、无机磷、去离子水、去离子水的顺序进行检测,去除第 1 份 P 的检测数据后,计算 29 份混合血清标本 P 的平均值  $\bar{X}_M$ 。搅拌针携带污染率 =  $(\bar{X}_M - \bar{X}_T) / \bar{X}_T \times 100\%$ 。(5)比色杯携带污染葡萄糖试剂对无机磷测定结果的影响:西门子 ADVIA2400 全自动生化分析仪具有 340 个比色杯,在葡萄糖与无机磷之间增设仪器试剂针及搅拌针自动清洗程序,排除试剂针与搅拌针的携带污染。取正常浓度组混合血清 370 份,其中前 340 份检测葡萄糖,后 30 份检测无机磷。去除第 1 份 P 的检测数据后,计算剩余 29 份混合血

清标本无机磷的平均值  $\bar{X}_C$ 。比色杯携带污染率 =  $(\bar{X}_C - \bar{X}_T) / \bar{X}_T \times 100\%$ 。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS19.0 软件进行统计学分析,组间比较采用独立样本 t 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

10 次样本针的携带污染率分别为 0.625%、0.968%、0.882%、0%、0%、-0.303%、0.938%、-0.323%、0.909%、-0.625%,均在一3%~3%之间,说明葡萄糖对无机磷的污染与样本针无关,且生化仪性能良好,样本高低值之间存在的干扰小。试剂针、搅拌针、比色杯携带污染葡萄糖对无机磷检测结果的影响,见表 1。

表 1 试剂针、搅拌针、比色杯对 P 检测结果的影响( $\bar{x} \pm s, n=29$ )

	P(mmol/L)	携带污染率(%)
真值	1.236±0.012	—
试剂针	5.820±0.347*	370.87
搅拌针	1.240±0.013*	0.41
比色杯	1.255±0.028*	1.54

\*:  $P < 0.05$ , 与真值比较; —: 此项无数据。

## 3 讨论

据文献[2]报道,样本针携带污染率在一3%~3%之间,试剂针、搅拌针、比色杯携带污染引起的检测结果的偏差率小于 3%时,说明不存在需要处理的携带污染。由实验结果可以发现:(1)样本针与试剂之间的携带污染无关;(2)搅拌针不存在携带污染;(3)试剂针存在携带污染,且需要处理;(4)比色杯携带污染率小于 3%,说明差异在允许范围内,不需要进行处理。因此,血清葡萄糖检测试剂对无机磷测定结果的影响,主要是由于试剂针的携带污染所引起的。无机磷试剂主要是采用磷钼酸盐复合物直接分析法,反应生成的未还原磷钼酸盐复合物与样本中的磷含量成正比,但是葡萄糖试剂中含有的磷酸盐缓冲液会对无机磷试剂的反应底物产生干扰,使无机磷的测定结果受到影响。由于存在上述的干扰机制,所有含磷酸盐缓冲液的试剂均可对无机磷测定产生干扰,且干扰程度与磷酸盐缓冲液的浓度成正比<sup>[3]</sup>。因此在设定分析顺序时,不能将含有磷酸盐成分试剂的分析项目放在无机磷之前,以避免携带污染。

全自动生化分析仪虽然具备高速、精确、自动化程度高等

特点<sup>[4]</sup>,但是高速运行的试剂针往往因为只进行一遍短暂水洗而难以清洗干净,容易造成分析项目之间的携带污染,影响检验结果的准确性<sup>[5-7]</sup>。通常情况下,可以通过以下方法避免项目间的交叉污染:(1)在设定各个项目之间的分析顺序时,要尽量将产生干扰的项目分开,或是将被干扰的项目放置于干扰项目之前;(2)合理利用仪器智能清洗程序及不同成分的清洗液,对生化分析仪的试剂探针进行清洗,避免试剂间干扰的产生。要避免交叉污染,不但需要熟练掌握仪器的操作、性能及原理,更应该了解各试剂反应原理及成分,设定合理的分析顺序及清洗程序,从而保证检测结果的准确性。

## 参考文献

[1] 赵笔辉.应用 EP7-A2 文件对无机磷测定的干扰评价[J].第三军医大学学报,2010,32(22):2455-2456.

- [2] Joseph B,Michelle F,Dave A. Reagent carryover studies:preventing analytical error with open clinical chemistry systems [J]. Lab Med,2005,36(11):705-710.
- [3] 尤昕,任淑子,李玉花,等.交叉污染对血清无机磷测定结果的影响[J].延边大学医学学报,2004,27(2):131-133.
- [4] 汝香,林珊.雅培 C8000 全自动生化分析仪的使用体会[J].实验与检验医学,2010,28(2):182-183.
- [5] 于雷.生化自动分析仪项目间试剂的交叉污染及其避免方法[J].临床检验杂志,2003,21(3):168.
- [6] 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.
- [7] 陈强.全自动生化分析仪试剂交叉污染及清洗实验操作方法的探讨[J].临床和实验医学杂志,2009,8(7):60-61.

(收稿日期:2013-03-10)

## • 检验仪器与试剂评价 •

# 新型结核分枝杆菌核酸检测试剂盒的临床应用初步评价

冯庆芳,何小宁,王小婷,周翠蕃

(甘肃省定西市岷县中医院检验科,甘肃定西 748400)

**摘要:**目的 通过对比实验,对结核分枝杆菌(TB)核酸检测试剂的临床使用效果进行评价。方法 用分离培养法与圣湘生物结核分枝杆菌(TB)核酸检测试剂分别对 202 例临床收集的样本进行结核分枝杆菌的检测并对比其结果,同时,将两种检测方法的检测结果分别与测序法结果进行对比。**结果** 结核分枝杆菌核酸检测试剂与培养法的阳性一致性百分比为 100%,阴性一致性百分比为 98.61%,总一致性百分比为 99.01%;对 2 例不符样本进行测序复核,并对复核后的结果进行 Kappa 检验一致性分析,结果 Kappa 值为 1.000,表明结核分枝杆菌核酸检测试剂结果与金标准分离培养法的结果具有很好的一致性,表现出较好的准确性。**结论** 结核分枝杆菌核酸检测试剂与分离培养法的结果具有很好的一致性,且阳性率较分离培养法更高,所需检测时间大为缩短,具有内标控制假阴性,结果准确,符合临床检测要求,具有较高的临床应用价值。

**关键词:**结核分枝杆菌; TB DNA; 聚合酶链反应; 培养法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.19.051

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)19-2601-02

结核分枝杆菌(*M. tuberculosis*)简称为结核杆菌(*tubercle bacilli*, TB),是结核病的病原菌<sup>[1]</sup>。世界上有 1/3 的人感染了结核分枝杆菌,每年有 800 万新患者出现,300 万人死于结核病,且耐药率的不断上升,给结核病的治疗和控制带来严峻的挑战<sup>[2]</sup>。目前对结核病的诊断需要综合临床表现、影像学检查、结核菌检查等资料。结核菌检查是确诊结核病最特异的方法。其中分离培养法被认为是临床诊断结核病的“金标准”。但该方法一般需 2~8 周方能获得结果,灵敏度较低,且易出现漏检,严重影响结核病的早期诊疗<sup>[3]</sup>。建立快速、准确、可靠的结核分枝杆菌的检测方法成为研究热点<sup>[4-5]</sup>。其中实时荧光定量 PCR 技术以其高灵敏度、高特异性以及简易的操作受到越来越多的关注和应用<sup>[6]</sup>。最近,新出现了一种 TB 核酸检测试剂,灵敏度高。该试剂有预防假阴性的内标控制体系和抗污染系统,能有效避免同类产品存在的假阴性及气溶胶污染。本研究拟通过检测临床样本,将其与分离培养法进行比对,来评估这一新试剂的准确性及特异性。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 本次研究共检测痰液样本 202 份,其中男性病例 109 例(53.9%),女性病例 93(46.1%),-20℃冰箱保存。结核病的诊断标准参照我国卫生部发布《肺结核诊断标准》2008 年版。

**1.2 仪器与试剂** 结核分枝杆菌核酸检测试剂购自湖南圣湘生物科技有限公司,具有内标监控假阴性,最低检测限为每毫升 1 个菌;核酸扩增仪采用美国 Stratagene 公司的 Mx3000P

实时荧光定量 PCR 仪。分离培养法使用改良罗氏培养基(4~8 周),灵敏度为每毫升  $10^1 \sim 10^3$  个菌。克隆测序于 ABI3130 (ABI 公司,美国)基因分析仪上进行。

**1.3 方法** 分别采用该新型 PCR 检测试剂和分离培养法对 202 例临床样本(每例样本一分为三,保留一份样本作为复检)进行检测,方法如下:在样本中加入 2~3 倍体积的 4% NaOH 溶液,震荡混匀后,静置液化 30 min。取液化后的样本 500  $\mu$ L 于 1.5 mL 离心管(避免吸出明显的固体杂质),12 000 r/min,离心 3 min,吸除上清;加入 1 mL 无菌生理盐水重悬沉淀,12 000 r/min,离心 3 min,吸除上清;加入 50  $\mu$ L 核酸释放剂,100℃处理 10 min,12 000 r/min,离心 3 min,上清作为待测样本备用。取 5  $\mu$ L 作为 PCR 反应的模板加入 PCR-mix 40  $\mu$ L 上机检测即可。参考相关文献设计复检引物,正义链:TIS-F:5'-ACG GAT AGG GGA TCT CAG TAC AC-3',反义链:TIS-R:5'-CGT CTC GGC TAG TGC ATT GTC-3'。将不符合样本用复检试剂进行 PCR 扩增,并将 PCR 产物通过电泳和克隆测序进行复核。PCR 反应体系:总体积 50  $\mu$ L,包括 20 pmol PCR 引物,25 mmol/L MgCl<sub>2</sub>,2.5 pmol/L dNTPs,2  $\mu$ L Taq 酶及 PCR 缓冲液。PCR 反应条件:95℃ 15 min;(95℃ 20 s,60℃ 40 s,72℃ 40 s)35 循环;72℃ 30 min。

**1.4 统计学处理** 数据进行阴阳性一致性分析,灵敏度、特异度分析和 kappa 检验一致性分析。

## 2 结果

**2.1 分离培养法与新型试剂检测结果** 根据金标准分离培养