

六亚基四胺银(GMS)染色法;能特异性着染真菌胞壁。PAS 染色中,真菌细胞壁中碳水化合物上的羟基被氧化为醛,醛基与复红形成淡红色化合物,若用孔雀绿复染,真菌更易区别;GMS 染色法中,锇酸能将真菌胞壁中的多糖氧化为醛,后者使六胺银还原为银,不但能使真菌着染,还能使真菌胞壁及胞隔清晰着染,有报道称其检出率达 89%^[3]。这两种方法的缺点是需要特殊化学试剂,相对费时较长。

2 真菌培养、鉴定、药敏试验

临床标本直接镜检时,无论检出真菌与否,都应进行常规分离培养。对致病真菌培养的目的是为了进一步提高对病原体检出的阳性率,同时确定致病菌的种类,应注意直接镜检与培养检查相结合。常规分离鉴定使用的培养基为沙保罗氏培养基、血琼脂培养基等,有时根据需要还可选用不同性质的培养基。

真菌培养是目前鉴定真菌的惟一方法。菌种的鉴定是一个复杂过程,仅观察菌落形态是不够的,有时还需作生化反应。大多数角膜感染的真菌至少 24 h 才能生长,培养 3~7 d 以上才能确定是否为真菌感染。为了分离鉴定真菌,有时需要辅助培养基。角膜涂片或组织培养是诊断真菌感染的最可靠依据,同时可鉴定真菌菌种,进行药敏实验,为临床上选择敏感药物治疗提供依据。实验室查证的病原菌属不同其首选治疗的药物则不同。此法耗时较长,明确诊断时往往影响治疗,且培养结果受取样的影响较大。真菌性角膜炎在热带、亚热带地区发病率较高,有超过 105 种真菌可引起感染,目前我国的首位致病真菌为镰孢菌属。

3 角膜活检、印片检查

疑为角膜真菌感染患者,而角膜涂片和真菌培养阴性,或深层浸润难以用角膜涂片获取标本者;对已确认单疱病毒性角膜炎,在用抗病毒药物联合皮质类固醇治疗期间病情恶化者,

行角膜活检极为有用。取得的标本进行镜检、培养可对角膜真菌感染做到快速、正确的诊断,比单纯角膜涂片更为优越。但是,当角膜溃疡大、深者,容易造成角膜穿孔^[4]。若患者不接受角膜活检时,可用带微孔的硝酸纤维素膜在角膜溃疡的表面,施加压力,如印迹细胞学一样取材^[5]。

随着角膜真菌感染发病率的日益增高,早期诊断、早期治疗已成为目前临床的迫切需求。虽然临床上可以根据角膜植物损伤后的感染史,结合角膜病灶的特征作出初步诊断,但真菌的实验室检测方法日趋成熟和完善,能为诊断临床角膜真菌感染提供有力的依据,实验室检测的方法很多,除了常规方法外,还有免疫荧光染色、电子显微镜检查、聚合酶链反应技术、角膜共焦显微镜检查等。每种方法都各有利弊。常规实验室检测方法具有简单、快捷、易学、不需要昂贵的设备等特点,对临床角膜真菌的检测及鉴定其种属,在使真菌性角膜炎得到良好的预防和控制中发挥着很大的作用。

参考文献

[1] Arffa RC, Avni I, Ishibashi Y, et al. Calcofluor and ink-potassium hydroxide preparations for identifying fungi [J]. Am J Ophthalmol, 1985, 100(5): 719-723.
[2] Wilson LA, Sexton RR. Laboratory diagnosis in fungal keratitis[J]. Am J Ophthalmol, 1968, 66(4): 646-653.
[3] Thomas PA. Mycotic keratitis——an underestimated mycosis[J]. J Med Vet Mycol, 1994, 32(4): 235-256.
[4] 谢立信, 史伟云, 刘敬, 等. 改良角膜活检法对真菌性角膜炎的临床诊断[J]. 眼科新进展, 1999, 19(1): 89-91.

(收稿日期: 2011-09-29)

临床检验分析前影响检验结果因素探讨

田娟娟, 白明华(山西省太谷县人民医院检验科 030800)

【关键词】 分析前; 检验结果; 影响因素; 注意事项
DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2012. 05. 084 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2012)05-0639-02

临床实验室的作用就是为人类疾病的诊断、治疗以及健康状况的评估提供可靠的、科学的信息。随着科学技术的进步,大量先进仪器和技术的采用,临床实验室在临床医学中发挥着越来越重要的作用。能否向临床提供高质量(准确、可靠、及时)的检验报告,得到临床医生的认可,满足患者和临床的要求是检验工作的核心问题。假如检验结果受各种因素影响出现偏差及差错,会给临床工作带来错误的诱导,影响临床医生的诊断和治疗,甚至还会导致严重的临床后果。

因此,正确的采集、保存和运送标本是保证临床检验质量的前提。本文主要探讨在临床检验中标本采集、保存和运送对检验结果的影响因素以及注意事项,从而引起临床医护人员及检验人员对临床检验分析前影响检验结果因素的足够重视,保证临床检验质量。

1 标本采集中存在的影响因素及注意事项

1.1 毛细血管采血

1.1.1 毛细血管采血中采血部位不当,消毒不严,针刺深度不够,采血速度太慢都会影响检验结果。

1.1.2 注意事项 (1)采血部位的皮肤应完整、无水肿、炎症、发绀或冻疮等;(2)采血时要严格消毒和生物安全防范,采血针、微量吸管应一次性使用;(3)采血时针刺深度 2~3 mm,第一滴血应擦去,取血时稍加挤压,但切忌用力挤压,以免混入组织液造成血液稀释;(4)血液流出后易凝固,采血动作要快而熟练。

1.2 静脉采血

1.2.1 静脉采血时体位变化、压脉带捆扎时间过长、同侧输液、输注药物、抗凝剂的选择等都会造成检验结果的误差。

1.2.2 注意事项 (1)采血时一般取坐位或卧位,立位采血会影响水分在血管内的分布,从而影响被采集血液成分的浓度;(2)压脉带捆扎时间不应超过 1 min。如压脉带捆扎时间长会影响生化检验结果;(3)采血时如患者正在输液,不应在输液同侧采集血液,以免血液稀释对检验结果造成影响或导致某些检测结果偏高;(4)进行某些特殊项目的检验时,所输注药物会对检验结果造成影响,应在标本采集时标明或与检验科取得联系;(5)有些检测项目需要使用抗凝血,不同的检测项目应使用

不同的抗凝剂,如草酸盐、柠檬酸盐和乙二胺四乙酸等抗凝剂为金属螯合剂,可抑制需 Ca^{2+} 的淀粉酶(AMY),也可抑制需 Mg^{2+} 的肌酸激酶(CK)和 5'-核苷酸酶(5'-NT);草酸盐既可与丙酮酸或乳酸发生竞争性抑制,又能与 NADH 或 NAD^+ 形成复合物,从而抑制催化的还原或氧化反应。柠檬酸盐、草酸盐对胆碱酯酶(ChE)有抑制作用;EDTA 还能抑制碱性磷酸酶(ALP);氟化物也可抑制 ChE。故用上述抗凝剂分离的血浆一般不易做酶活性测定。肝素是黏多糖,对丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、肌酸激酶、碱性磷酸酶无影响,适于急诊时迅速分离血浆进行测定,但可使 γ -谷氨酰转肽酶(γ -GT)升高,使 AMY 降低,需加注意^[1];(6)使用后的采血针要放入利器盒内,防止职业暴露与污染环境;(7)采血前应检查所用试管是否完整无破损,勿松动试管盖塞,以减少负压影响采血,对患者造成不必要的痛苦。

1.3 动脉采血

1.3.1 动脉采血时采血不顺利、标本凝固、未隔绝空气、放置过久等因素都将造成检测结果的不准确。

1.3.2 注意事项 (1)动脉血液标本须抗凝,标本抽取后应立即混匀,防止凝固,如血液有凝块将导致血气分析仪中毛细管阻塞并影响检验结果;(2)采得的血液标本必须严格隔绝空气,因为空气中的氧分压高于动脉血,二氧化碳分压低于动脉血,一旦接触空气,可使血液中的氧分压和二氧化碳分压都改变而无测定价值;(3)血液标本采集后必须立即送检,因标本采集后在室温搁置太久,血细胞在体外仍有糖酵解作用,不断消耗氧气产生二氧化碳和乳酸,使氧分压和 pH 下降,而二氧化碳分压上升。故标本不能及时检测时,必须置冰水浴或冰箱内,但最长不能超过 1 h,冰箱中仅使其反应延缓而已。

1.4 尿液标本采集的影响因素及注意事项

1.4.1 尿液标本留取时,标本留取不合格,存放时间过久等都可以影响检验结果的准确性。

1.4.2 注意事项 (1)一定要严格按照要求留取标本,在留取标本前应交待患者留取标本的时间、方法和要求(如空腹、限制饮食及水的摄取,控制身体活动量,停用对检测结果有影响的药物等),并避免经血、白带、精液、粪便等混入;(2)检验微生物的标本应使用无菌容器;(3)标本留取后尽快送检;(4)尿胆红素和尿胆原等化学物质可因光分解或氧化而减弱,标本送检时应避光。

2 检验标本保存对结果的影响及注意事项

2.1 血液标本采集后应立即送检,对不合格的标本及时通知临床重新进行采集,对不能及时检验的标本要尽快分离血清或血浆并根据检验项目置于合适条件下妥善保管(标本存放时需加塞,以免水分挥发而使标本浓缩)。因为血液离体外后血细胞的代谢活动仍在继续进行,可发生红细胞与血清之间成分的相互转移,或细胞中的某些酶分解待测物等而影响检测结果。例如,血清无机磷可由于红细胞内有机磷酸脂的水解而增加;血清中葡萄糖可因红细胞内糖酵解作用而降低,此外钠存在于红细胞与血清中之比为 1:2;钾在血清和红细胞中之比为 1:20;钙在红细胞中极少,几乎全部在血清中。因此,血清钠、钾、钙测定时需及时分离标本,分离后的标本若不能及时检测或需保留以备复查时,一般应放于 4℃ 冰箱^[2](若不能立即分离血清或血浆,应待标本凝固后再放入 4℃ 冰箱,以免发生溶血)。某些检测项目的标本存放于 -20℃ 冰箱更稳定(如某些凝血

因子的检测)。需注意的是,某些检测指标如乳酸脱氢酶的标本应存放于室温,置 4℃ 反而不稳定。冰冻标本在室温下解冻后应混匀,一次测定,反复冻融将影响结果。

2.2 尿液标本应留取新鲜尿液,接到标本后应在 30 min 内检验完成,最多不应超过 2 h。如果尿液因故不能立即检测,可放入 4℃ 冰箱保存,一般可以保存 6 h,低温能防止一般细菌生长,保持尿液的弱酸性及某些成分的生物活性。尿液排出体后将逐渐发生物理和化学变化,其中尿胆素原、胆红素等物质见光后易氧化变质,细胞和管型在低渗、高渗环境中容易变形或破坏。尿中细菌的繁殖会消耗葡萄糖而造成假阴性,非致病菌还原硝酸盐可使亚硝酸盐定性假阳性,并分解尿素产生氨,导致尿 pH 升高。碱性尿还会破坏细胞、管型及其他有机成分,另外标本长时间存放还会使尿中酮体、挥发性酸含量降低,菌体蛋白可干扰尿蛋白检测,因此尿标本留取后应立即检测^[3]。如要收集较长时间尿液的标本,要根据测定项目的不同加入不同的防腐剂。

3 检验标本的运送对结果的影响及注意事项

3.1 标本在运送途中应防止过度震荡,防止标本容器的破损,防止标本被污染,防止标本惟一标识的丢失和混淆等。血液标本应防止溶血,溶血可使红细胞计数、血细胞比容、血浆或血清化学成分(如:钾、镁、氨基转移酶、胆红素)等多项指标检验结果增高或减低,不能确切地反映原始标本的实际含量,使检验结果失去准确性。

3.2 标本在运送途中应注意安全性,防止标本对环境的污染。对于有高危致病源微生物的标本应按《病原微生物实验室管理条例》的相关要求运送。

3.3 标本一般在室温下运送,但有些检测项目(如血小板第 4 因子)需在 4℃ 下运送,以防降解^[3]。

原始样品的采集和处理是实验室检验质量管理的源头,所以实验室应制定并实施正确采集和处理原始样品的专用指导书。并对医护人员进行基本操作、基础技能、业务知识的培训,使其对各种影响检验结果的因素全面系统的了解,做到制度完善化、操作规范化,同时也提高了检验人员的工作效率。另外医护人员要加强工作责任心,在采集临床标本时,认真执行查对制度,确认患者标本惟一标识。当出现申请单和标识不一致,标本错抽、溶血、脂血等情况时,检验科应拒绝接收标本。检验人员也要杜绝标本错编号、漏做、错做检验项目,错报检验结果等情况的发生,而且在平时应依据有关规定校正、维护、保养仪器,保证标本分析时仪器处于良好的状态。总之,医护人员在工作中要认真严谨,与患者及家属密切配合,保证检验质量,使临床检验工作更好地服务于广大人民群众。

参考文献

- [1] 周新,府伟灵,于嘉屏,等.临床生物化学与检验[M].4 版.北京:人民卫生出版社,2007:106.
- [2] 李萍,刘彬,兰英,等.生物化学检验[M].2 版.北京:人民卫生出版社,2008:9.
- [3] 罗春丽,刘体全,朱伟,等.临床检验基础[M].2 版.北京:人民卫生出版社,2010:127.