**应用简要技术问答 **

**1.不同批号试剂相混的问题**

**答：**目前将不同批号的试剂混合在一起使用的现象在检验中经常发生,当然这一方面是为了节省成本,另一方面为了方便。但是不管是什么品牌、什么试剂,由于不同批号的试剂生产时间不同,试剂中工具酶的活性会有差异,会发生水解的底物浓度随时间长短也会不同。因此混在一起使用而又不定标,可能会导致检测结果的不准确。还有如果有的试剂开瓶时间太长,空气中的灰尘或细菌会进入瓶中,由于有的试剂含有大量的蛋白质和盐,是细菌生长的最好条件,虽然有的试剂添加了防腐剂,但防腐剂的防腐也是有一定限度的,而且绝大多数厂家的试剂中是没有加防霉剂的。

解决办法:①不同批号试剂建议不要混用,如果混用最好重新定标;②试剂瓶在仪器内使用时间不要过长,及时更换。③一般每个试剂瓶内由于试剂针不能吸完,或多或少都会留有几毫升的试剂,如果是同一批号可以将未开瓶的同一批号试剂往里倒,但如果不是同一批号的试剂时倒入后最好定标,最好的做法是将每个批号的剩余试剂留起来待一定数量后混在一起,然后重新定标后检测。

**2. 影响生化结果的主要因素有哪些?**

**答：**A仪器原因

（1）光源灯、透光窗和温育池的水不清洁。光源灯超过使用期限没有更换，透光窗不清洁，温育池的水有细菌滋生产生絮状漂浮物，都会直接造成光的散射影响比色结果。 反应杯清洁与否直接影响分析结果的精度。每个反应杯的透光率不同，新的反应杯差值小，使用过的反应杯差值较大，使用时间越长影响也就越大，脏污的反应杯除影响透光率外，杯内的残留物还与加入的试剂参与反应，双重影响检测结果。 试剂吸量器、样本吸量器内是否有气泡产生，密封圈是否老化。如发现吸液注射器内有气泡产生要及时更换密封圈。样本针、试剂针有无堵塞，冲洗喷头、废液排出管道是否通畅，如有堵塞造成吸液量不准，废液排出不畅使样本针清洗不彻底，两者对测定结果均有很大影响。

（2）试剂、校准品、质控品原因

试剂超过有效期或保存不当，使定标发生错误，造成检测结果的系统误差。同时要注意试剂开瓶后的稳定期限，选择适合本实验室工作量的试剂包装，保证检测结果的准确性。校准品、质控品：校准品打开后最好当日使用，如果量比较大价格较贵时，应当及时冷冻，但不能反复冻融。质控品融开后也应及时分装冷冻，以免影响测定结果。 试剂的交叉污染：绝大多数自动化分析仪的反应杯、分注器、搅拌针不是专用，根据试剂的反应原理，试剂之间存在干扰现象。可引起：①试剂之间的反应；②残存试剂的影响 (免疫比浊法)；③残存试剂与新加样本之间的反应；④残存试剂与样本、反应试剂之间的反应。因此在设置检测项目时应按照试剂反应原理调整检测项目的先后顺序。

（3） 参数设置不当

主参数设置包括：①测定方法、反应类型；②样本体积分数；③ 主、次波长的选择；④反应时间、反应温度；⑤计算因子；⑥线性范围及吸光度的上限和下限。如果以上参数设置不当对测定结果会有很大的影响。

**3. 最近发现血糖测定的结果几本都偏高，以前一直挺好的 ，不知道是什么原因，请技术支持一下，仪器型号是AU680。谢谢！**

**答：**可能情况有三种：

1、出现干扰或者交叉污染，可通过检查清洗装置和更换试剂测试通道顺序解决；

2、试剂失效，可以通过更换新试剂来验证和解决；

3、仪器光路问题，可以观察ALT,ALT测定结果重复性来确定，通过更换灯泡和其他光路设备来解决。

**4. 婴幼儿的胱氨酸蛋白酶抑制剂 C（CYS-C）样本检测结果超过推荐的参考范围上限（0.56~1.15mg/L），是否判断为肾功能异常？**

**答：**研究表明，在儿童中血肌酐的浓度是随着年龄的增长逐步上升的，直到成年才达到稳定，因此运用 Scr 评定儿童肾功能有一定困难。近年来有学者在测定 258 位没有肾脏疾病的正常儿童血CYS-C 时发现：出生后 1～3 天内血CYS-C 的浓度非常高，可达 1.64～2.59mg/L, 在生后 4 个月内迅速下降，1 岁左右其浓度逐渐稳定，大约是 0.7～1.38mg/L。在 69 例 1～16 岁的儿童，以 Cr2EDTA 作为评定 GFR 的金标准，CYS-C 与 GFR 的相关性 (r=0.83) 明显好于血肌酐与 GFR 的相关性 (r=0.67)。Harmoinen 等报告的 58 例早产儿、50 例足月儿及 299 例生后 8 天至 16 岁的儿童测定CYS-C, 未发现性别差异；早产儿CYS-C 波动于 1.34～2.57mg/L，足月儿为 1.36～2.23mg/L；1 岁以内 0.75～1.87mg/L,1～3 岁 0.68～1.6mg/L；临床发现 3 岁以上儿童CYS-C趋于稳定为 0.51～1.31mg/L。提示同成人相比血CYS-C 作为 GFR 的衡量标准同样适用于儿童且有其独到之处。

**5. 为什么有的时候样本CKMB结果＞CK？**

**答：（1）** 检测原理：CK包括M.B两个亚基，三个同工酶CK-MM  CK-MB  CK-BB. CK-MB的检测原理是：CK-BB在正常人体内含量极低，可以忽略不计，试剂中加入抗M亚基抗体，抑制M亚基活性，通过检测B亚基来表示CKMB含量。当某些疾病使CKBB升高时，会导致CKMB假阳性

 **（2）**CKMB正常，CK高可能会出现在什么情况的病人？

溶血标本、肌肉损伤、外科手术后、剧烈运动、酒精中毒、肌营养不良； 例：一位退休教师查体CK3000U/L，但CK-MB正常，经查这个老师是游泳教练，在查体前一天做过过量运动；

**（3）** 哪几种原因可能导致CKMB > CK？

① 标本溶血

 ② CK-BB升高，巨CK细胞，恶性肿瘤，脑部疾病；

③ O型或B型血的癌症患者,原因是部分癌症病人免疫系统混乱，其中的一些免疫球蛋白充当的辅酶的作用；

**（4）** 为什么有些质控CK-MB结果大于CK？

因为质控中有一些添加成分，可能动物组织（牛脑）含有CKBB，所以CKMB的结果>CK，但不应该大于CK的2倍。

**6. 最近我们电解质结果以前很好，最近都不怎么好，校准了，还是不怎么好？**

**答：**您好，检查水机电阻值（电导率）怎么样？如果偏高了，建议更换纯水机树脂滤芯，因为电解质项目，对水质要求很高，如果水机电阻值（电导率）偏高了，会导致电解质项目做不好的。

**7. 我发现你们的试剂跟罗氏的试剂做平行比对的时候，差异很大，都超出比对允许范围了，你们试剂是不是有问题？**

**答：**您好，因为溯源的对象不一致，会导致各个厂家的试剂在做平行比对时，会出现一些差异，所以我们的试剂都按照行标要求进行过线性比对的，所以试剂在质量上是没有问题的，请放心使用。

**8. 生化仪器试剂位不够，可以把双试剂混成单试剂使用么？**

**答：**不建议双试剂混成单试剂使用，例如酶法肌酐试剂,第一步R1中的酶要消除样品中内源性肌酸的干扰,如果混成单一试剂,则会使检测结果偏高,消除法HDL、LDL也不能混成单一试剂,因为它们都要分别清除HDL和LDL以外的脂蛋白,从而达到检测的目的,如果混成单一试剂,则会使测定的HDL和LDL不准确。另外,有的试剂混成单一试剂后,稳定性和抗干扰能力也会明显下降。

**9. 如何避免检测过程中的交叉污染现象？**

**答：**1，按要求定期保养仪器；2，原厂或正规清洗液；3保证水质优质；4，合理安排项目检测顺序

**10. 开展乳酸项目需要注意什么？**

**答：**血乳酸是糖无氧氧化(糖酵解) 的代谢产物，血细胞在离体的情况下，尤其在室温条件下，依旧会进行代谢活动，持续对血液中氧气进行消耗，产生大量二氧化碳以及酸性代谢物质（以乳酸为主）。所以检测乳酸的标本在采集完成后，尽快离心检测。

**11. 检测血清脂肪酶对急性胰腺炎的诊断更优于淀粉酶吗？**

**答：**是的，人体脂肪酶主要来源于胰腺，而淀粉酶除来源于胰腺外，还来源于唾液腺及其他组织，如腮腺炎等疾病，因此脂肪酶的特异性高于淀粉酶。急性胰腺炎时脂肪酶和淀粉酶均可增高，但血清淀粉酶增高的时间较短，2-5天下降至正常；而脂肪酶增高可持续10-15天，其增高的程度高于淀粉酶，，因此，血清脂肪酶对急性胰腺炎的实验诊断更优于淀粉酶。

**12. 全自动生化仪双试剂项目中出现R1、R2液量不能匹配的原因分析**

**答：**双试剂项目一段时间做下来后，试剂盒中就会出现R1与R2不能匹配情况，原因是加试剂时试剂针都有附加余量，而且随加的试剂量不同，附加余量也不同；以日立仪器为例，在日立生化仪操作手册上有个关于“为防止试剂被稀释，在每次吸取试剂时再吸取一定的余量加在设定量上”的表格如下:

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 试剂设定量（μl) | 50 | 100 | 150 | 200 | 250 | 300 | 350 |
| 附加余量（μl) | 13 | 16 | 19 | 23 | 26 | 29 | 32 |

举个例子,做ALT项目,反应试剂参数,R2为50μl,R1为200μl,R2:R1=1:4日立生化仪实际做时R2要吸掉63μl,R1吸掉223μl,R2:R1=1:3.54，这个吸样比例与实际需要的比例(试剂盒标示的比例)失衡！时间一久，就会造成R2已经用完而R1还剩余很多的情况。

**13. 为什么检测血糖时，留样要及时检测**

**答：**血液抽取后，如未经离心，由于红细胞糖酵解及细菌分解葡萄糖和白细胞降酶的作用，会使血糖浓度逐渐降低，有研究表明，采血后注入试管中，放置于室温凝固，如不及时离心分离血清，则血清葡萄糖可因血细胞的糖酵解而每小时降低百分之七（0.28--0.56mmol/L);而注入消毒的抽真空试管中，在较低气温下，则每小时降低百分之一点九（0.033--0.066mmol/L）。因此，在工作中，采血后血标本如注入无防止糖酵解添加剂的真空试管中，应及时送检分离血清并及时检测，防止注入容器不当及放置时间过长而影响检测结果，为临床提供正确的血糖检测值，对糖尿病患者的诊疗有着十分重要的意义。

**14. 最近我们ALT质控越做越低，其他项目都正常，校准后质控就好了，过两天又低了，校准后又正常了，是什么问题？**

答：（1）可能试剂是因为储存或其他原因导致试剂变质了，所以才会导致这样的问题，建议换一盒新试剂并校准后再检测。（2）也可能是质控品在运输或者储存中导致质控品成份发生变化（某三级医院曾经遇到过同样问题更换质控品批号后正常）

**15.检验科质控失控原因分析**

**答：**失控的原因只包含两个方面：检测系统和质控品。检测系统又分为人、机（仪器）、料（试剂、校准品）、法（SOP）、环境。

1. **人为因素：**

a1、检验人员的变更、试剂放错位置

a2、检验人员设定了错误的校准值、把校准品的校准时限设置过长

a3、检验人员复融（溶）质控品没有放置到室温足够时间；使用水浴箱以及体温加速质控品的溶解

a4、检验人员加样量不准确（加样枪或者移液器没有定期校准，没有垂直加样）

a5、检验人员使用了错误的单位

**B、机（仪器）因素：**

b1、近期没有进行过仪器维护保养

b2、电压不稳定，没有使用UPS

b3、孵育箱或反应加热块的温度不恒定

b4、光电比色光源老化造成光强不足

b5、滤网需要清洁、注射器漏液、仪器管路漏气、注射器活塞脱落

b6、加样针携带引起的交叉污染、加样针部分堵塞

**C、试剂因素:**

c1、试剂开瓶时间长导致挥发，试剂浓缩、超过有效期

c2、不同批号试剂混合使用

c3、试剂瓶或试剂管道中有气泡

c4、试剂间的交叉污染、未做试剂空白

**D、校准品因素:**

d1、校准品未混匀

d2、校准品超过有效期、开瓶时间长变质

d3、校准品反复使用引起的污染

d4、校准品复溶不完全、复溶后反复冻融使用

d5、校准品与试剂不配套使用

d6、校准品位置放错、更换批号后校准值未重新设定

**E、操作方法（SOP）:**

e1、SOP未规定操作内容（比如仪器维护保养周期、校准时限等）

e2、SOP记录内容有误（比如和仪器、试剂、校准品、质控品说明书不一致）

e3、SOP虽然描述了相关操作内容，但是不够具体，不能保证操作一致（比如质控品的混匀没有规定混匀时间或者混匀次数）

**F、质控品因素:**

f1、质控品开瓶时间超过说明书规定的开瓶有效期

f2、质控品储存温度不符合说明书的要求

f3、质控品未彻底溶解、复溶后反复冻融使用

**16.有时候新上项目定标总是不通过是什么原因？**

**答：**A、参数有问题，修改参数重新定标。

B、参数没有问题，校准液位置或者试剂有问题，又分为：

b1、重复性差，水质或者试剂有问题，更换新瓶或者新批号试剂重新定标。

b2、拟合不通过，修改拟合方式或者减少定标液个数或者更换定标液，最后更换试剂，最好获得对定标数据。