

前 言

为了保证临床化学检验质量,防止实验前误差,确保检验结果的可靠性,加强对临床化学检验标本的管理,特制定本标准。

本标准从我国临床化学检验的现状和我国国情出发,并参考了美国国家临床实验室标准委员会(National Committee for Clinical Laboratory Standards,NCCLS)提出的有关标准(H18-A)而制定。

本标准的附录 A 和附录 B 都是标准的附录。

本标准从 2002 年 7 月 1 日起实施。

本标准由卫生部医政司提出。

本标准负责起草单位:中国医科大学第一临床学院。

本标准主要起草人:张丽霞、孙艳虹、孙芹敏、褚云卓。

本标准由卫生部委托卫生部临床检验中心负责解释。

临床化学检验血液标本的
收集与处理

WS/T 225—2002

Collection and processing of blood specimens
for clinical chemistry

1 范围

本标准规定了临床化学检验室使用的血液标本的收集和处理过程及其原则。
本标准适用于检验医学临床实验室及研究室。

2 引用标准

下列标准所包含的条文,通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。本标准出版时,所示版本均为有效。所有标准都会被修订,使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

WS/T 224—2002 真空采血管及其添加剂

3 定义

本标准采用下列定义。

- 3.1 临床化学检验血液标本 blood specimens for clinical chemistry testing
完成某项或多项临床化学检验项目而采集的一定量的血液,包括抗凝血及非抗凝血。
- 3.2 静脉或动脉穿刺血液标本 blood specimens by venipuncture or ateripuncture
从病人静脉或动脉穿刺获取的可供临床化学检验用的血液标本,包括全血、血浆和血清。
- 3.3 皮肤穿刺血标本 blood specimens by skin puncture
通过皮肤穿刺获取的用于临床化学检验的血液标本。皮肤穿刺血是动脉、静脉和毛细血管血的混合血,常含有少量组织间液。
- 3.4 血清和血浆分离物质 serum and plasma separator devices
指能够帮助血清或血浆从全血中分离出来的物质。
- 3.5 相对离心力 relative centrifugal force,RCF
以一定角速度作圆周运动的物体的外向离心加速度同其质量的乘积。RCF 数值可按式(1)计算:
$$RCF = 1.118 \times 10^{-5} \times r \times n^2 \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:RCF——相对离心力(以g表示其大小);
r——离心半径,cm;
n——离心机每分钟转数,r/min。
- 3.6 离心前阶段 pre-centrifugation phase
标本采集后到离心处理前的一段时间。
- 3.7 离心阶段 centrifugation phase
标本处于离心机里的一段时间。

3.8 离心后阶段 post-centrifugation phase

标本离心后到血浆或血清被取出一定量用于检测之前的一段时间。

4 标本采取

4.1 采血途径

临床化学检验血标本可自静脉、动脉和皮肤穿刺采取,应用最多的为静脉采血。

4.1.1 静脉采血

除卧床病人,一般采血时取坐位,因为体位能影响水分在血管内外的分布,从而影响被测血液成分的浓度水平,如站立 5 min 可使血脂浓度提高 5%, 15 min 提高 16%, 故采血前至少应静坐 5 min。成人多用肘前静脉,肥胖者可用腕背静脉,婴幼儿常用颈静脉,偶用前囟静脉。静脉采血用止血带应一人一用一消毒。使用止血带的时间不可超过 1 min,穿刺成功后应立即松开止血带,否则会使被测血液成分的浓度增高。如静脉阻滞 5 min 可使甘油三酯浓度增高 10%~15%。正在静脉输液者采血前应停止输液 3 min,从未输液的另一侧或输液部位以下的静脉采血,对输液中所含物质(电解质、葡萄糖等)以外的物质的生化检测的结果一般无影响。一般采取坐位或卧位,最好于采血前保持同一体位至少 20 min,以避免体位变动引起被测生化指标的变化。

4.1.2 动脉采血

可由股动脉、桡动脉或肱动脉采血;新生儿可由脐动脉采血。动脉采血主要用于血气分析。

4.1.3 皮肤穿刺采血

常用部位为手指和耳垂,1 岁以下婴幼儿多用大趾或足跟部;烧伤或皮肤病患者可根据具体情况选用皮肤完整的肢体末端采血。采血部位应无炎症、水肿等病变,采血前可用温热湿毛巾等温热采血部位,以改善末梢血液循环;采血针刺入皮肤深度为 2 mm (应 <2.5 mm)。毛细血管血液可用毛细玻璃管或细孔径聚乙烯管收集,个别试验可用滤纸收集。毛细血管采血适用于仅需微量血液的试验或婴幼儿。

4.2 标本类型

4.2.1 血清与血浆

血清与血浆的主要区别是前者不含纤维蛋白原。需用血清做标本时,采血后将血液注入不含抗凝剂的干燥洁净的试管中,待血液凝固(夏季凝固快,采血后 30 min 可分离血清;冬季凝固慢,为减少细胞内外成分的变动,应将血液置于 37℃ 促凝,加速血清析出);血浆做标本时,采血后将血液注入含有相应抗凝剂的试管中,立即混匀(应注意避免有血凝块产生),混匀后可立即离心分离血浆。血清与血浆除纤维蛋白原外,丙氨酸氨基转移酶、门冬氨酸氨基转移酶、肌酸激酶、葡萄糖、总胆红素、尿素、总二氧化碳和钙等成分无明显差别,白蛋白、钠、磷、碱性磷酸酶、甘油三酯和尿酸等成分其差别虽有统计学意义,但无临床意义。血清或血浆成分与组织间液接近。

4.2.2 全血

全血标本采取法同血浆标本(见 4.2.1)。抗凝血采集后可立即供检测分析用。全血与血浆、血清水分含量不同(全血水占 81%, 血浆水占 93%),葡萄糖、尿素等溶于水的物质,用全血测定会比使用血浆低,红细胞压积高时其差异可能更大;有些物质在红细胞内外分布不同,全血测定与血清(血浆)测定结果会有差异,如乳酸脱氢酶、钾、门冬氨酸氨基转移酶、丙氨酸氨基转移酶、酸性磷酸酶等,红细胞内含量为血浆含量的 10 倍甚至百倍以上;只有那些红细胞内含量与血浆中相似的成分才可以用全血标本进行分析。除碳氧血红蛋白、高铁血红蛋白、硫血红蛋白和血红蛋白电泳必须用全血标本外,一般临床化学检验项目多用血清或血浆。

4.3 标本收集管

临床化学血液标本应使用不同规格的真空负压采血管进行收集(见 WS/T 224)。

4.4 采血环境

门诊采血室应包括候诊区、采血室(备有灭菌穿刺用品、皮肤消毒用品、各种标本收集管、血标本收

集架等),有条件时应设有恢复室(采血后虚脱或虚弱病人临时休息室,以待其恢复正常后离去);住院病人、卧床及行动不便者可于床边无菌采血,一般病人应于病房采血室内进行无菌操作采集血标本。

4.5 多项标本采集的采血顺序

如果一次采血要采取几个标本时,应推荐按以下顺序采血:

- a) 血培养管;
- b) 无添加剂管;
- c) 凝血试验管;
- d) 有添加剂的管(不同添加剂管按以下顺序采血:1)枸橼酸盐管;2)肝素管;3)EDTA管;4)草酸盐/氟化物管)。

4.6 预防感染

血液标本的采取和收集应严格遵守操作规程。为预防由于患者血液引起的人类免疫缺陷病毒(HIV)和肝炎病毒(HBV、HCV)等感染,实验室工作人员在进行标本采取、收集和处理工作时应戴乳胶、聚乙烯或其他塑料的一次性手套。

4.7 采血管标记及采血记录

采血人员采血时应签名登记,对标本管要准确无误地做标记,对标本的采取时间(年、月、日和具体时间)及有关情况必须认真记录。

5 全血处理为血清或血浆标本

血清或血浆应尽快地、自然地与细胞接触的全血中分离出来(除非有结论性的证据证明较长时间与细胞接触对结果的准确性没有影响)。从采集标本算起,必须在2h内分离出血清或血浆。

5.1 离心前阶段

5.1.1 血清

血液标本离心前一般应让其自行凝固,不可用木棍等剥离凝块。通常标本于室温(22℃~25℃)放置30min~60min可自发地完全凝集;冷藏标本凝集时间延长;含有促凝剂的标本收集管可加速凝集(如,凝血酶可使标本采集后大约5min发生凝集,玻璃或二氧化硅微粒可使标本采集后大约15min发生凝集)。应用促凝剂时,标本采集后应轻轻颠倒混合5~10次,以确保促凝剂发挥作用。

5.1.2 血浆

当试验需用血浆时,应使用含有抗凝剂的血液标本收集管。标本采集后必须立即轻轻颠倒混合5~10次,以确保抗凝剂发挥作用。应用抗凝剂的标本可于收集后数分钟内离心分离出血浆。

5.1.3 冷藏标本

标本需要冷藏(2℃~8℃)时,应立即将标本置于冰屑或冰水混合物中,并确保标本与致冷物充分接触,不可用大体积的冰块代替冰水(这样做不能保证致冷物与标本充分接触);在容器中的致冷物也必须保证达到标本的高度。

标本冷藏可抑制细胞代谢,稳定某些温度依赖性成分。但全血标本除非有特殊需要,否则不能冷藏。血钾测定标本冷藏不得超过2h。

临床检验中需冷藏的标本主要用于下列测定:儿茶酚胺、pH/血气、氨、乳酸、丙酮酸、胃泌素、甲状旁腺激素。

5.1.4 代谢抑制剂、防腐剂

血液标本收集容器中加入氟化钠类添加剂时,因其能抑制细胞糖代谢,可以防止超过贮存期限的标本内分析物浓度的变化。如加入氟化钠后,在血细胞未分离的情况下,葡萄糖在22℃~25℃时可以稳定24h,2℃~8℃时可以稳定达48h;但对于新生儿和儿科的血液葡萄糖检测标本,由于受小儿红细胞压积(PCV)高的影响,应用通常量的氟化钠很难全部抑制糖酵解代谢。甲醛-草酸钾抗凝保存剂不适用于血糖测定。氟化钠-麝香草酚混合剂因抑制酶活性,不适用于酶学检测。

5.1.5 标本收集区

5.1.5.1 温度及时间

标本收集后必须尽可能在短时间内运送到实验室。当收集标本区温度超过 22℃ 时,更应迅速地将标本从收集区取走。

5.1.5.2 试管放置方向

试管必须加管塞,管口朝上垂直放置。这种放置位置能促进凝血完全、减少试管内容物的振动、外溅、避免溶血、减少污染,防止打翻。

5.1.5.3 标本管的振荡及溶血

温和地处理已收集的标本有助于减少红细胞的破坏;标本管的振荡可能造成溶血。中度溶血(有 1% 红细胞破坏)血清或血浆可见红色。由于溶血对检测结果有严重影响(升高)的项目有:乳酸脱氢酶、天门冬氨酸氨基转移酶、钾和血红蛋白;引起值得注意的影响的有:铁(增加)、丙氨酸氨基转移酶(增加)和 T₄(降低);轻微受影响(增加)的有:总蛋白、白蛋白、磷、镁、钙和酸性磷酸酶。

5.1.5.4 暴露于光线下

有些对光线敏感的分析物应避免使血标本暴露于人造光或太阳光(紫外线)照射下。例如:维生素 A 和 B₆、β-胡萝卜素、卟啉、胆红素。上述检测标本应该用黑纸、铝箔或类似物质包裹保护。

5.1.6 离开标本收集区

5.1.6.1 标本运送到实验室

从临床科室到实验室或实验室之间标本运送受两个地点间距离和标本分析物稳定性的影响。全血标本从现场运送到实验室,应遵循 5.1.5.1 所规定的标准;否则应将标本先离心分离出血清或血浆,再送到实验室;对特殊实验,应参考有关规定作特殊处理。

5.1.6.2 标本运送注意事项

将标本从临床科室(采集后)运送到实验室,或由专业机构将外单位标本运送至实验室及从一个实验室送到另一个实验室,应特别注意对标本的包装和处理办法,以确保被分析成分的稳定性。运送温度不可过高过低(尤其夏天和冬天),同时必须注意防止污染。

5.1.6.3 自动化运送系统

自动化标本运送必须采用真空采血管。如果用气动管道和自动化标本运送车(箱)时,也必须注意保证标本管保持管口(管塞)向上垂直立位。这些系统对试验结果的影响已有评价,受影响的主要是那些受红细胞膜完整性破坏影响的项目,如:乳酸脱氢酶、钾、血红蛋白和酸性磷酸酶;不受影响的试验有:白蛋白、总蛋白、碱性磷酸酶、天门冬氨酸氨基转移酶、肌酐、尿素、尿酸、钠、氯、总胆红素、白细胞计数、部分凝血活酶时间和凝血酶时间。

5.1.7 实验室接受标本

5.1.7.1 时间

实验室接受标本后应予以分类和准备离心。标本凝集时间要充分(参见 5.1.1);加促凝剂的标本可于血液采集后 5 min~15 min 尽早处理;加抗凝剂的血液标本可以立即离心。

5.1.7.2 温度

冷却(2℃~8℃)标本应保持在这个温度直到准备离心。条件许可时推荐采用温度控制离心机(见 5.2.2)。

5.1.7.3 试管位置

实验室接受标本后,仍应保持标本管垂直、管口(管塞)向上放置。

5.1.7.4 试管封口

采血管应一直有管塞塞紧管口。管塞移去后,由于血液中二氧化碳丢失,会造成 pH(增加)、离子钙(减少)、酸性磷酸酶(减少)等变化,尤其 pH 的增高会影响某些试验结果的准确性;试管的封口还可以减少各种污染及标本的蒸发,防止标本喷溅和逸出。

5.1.7.5 标本拒收规定

有下列情况的标本不接受,但在应用中由主任或主管负责人决定。

a) 标本身份不明

例如:采血管没有标记或标记错误。

b) 血量不足

根据试验目的不同,血液收集管中的添加剂的种类和量不同,要求加入的血流量亦不同。当血流量不足时,过剩的添加剂会对试验结果产生潜在的负效应。推荐尽量采用血清作检验。

c) 使用不正确的标本收集管

血标本收集管选择错误会直接影响试验结果的准确性,应该根据不同的试验目的选择不同种类(无添加剂或加不同添加剂)的血标本收集管。例如,不同的抗凝剂:枸橼酸钠用于凝血酶原时间检测;ED-TA 用于 PCV、细胞计数、细胞形态学和血脂等检测;肝素用于电解质、pH 和血气分析、肌酸激酶、氨基糖苷类抗生素(庆大霉素、妥布霉素)检测;草酸钾和草酸钠不适用于钾、钠、钙离子检测,草酸铵不适合血氨及含氮物质检测。

d) 溶血

静脉穿刺不顺利或标本收集后处理不当可造成人为的标本溶血;溶血性疾病等可造成病理性溶血。前者所致的体外“中度溶血”时,将导致某些试验结果不准确(见 5.1.5.3)。

e) 运输不当

例如:应冷藏运送到实验室的标本未予冷藏;应冰冻运输的血清或血浆,未予冰冻等。

5.1.7.6 标本收取记录

实验室工作人员收取标本时,应认真核对检验申请单(核对标本来源及其属性、检测项目等),对有关情况应做认真记录;如果实验室临床化学分析实行了“电脑联网”,对标本管分类及编号应采用电脑能够自动识别的条形码予以标记;标本接收及处理者应签字登记。

5.1.8 离心标本准备

不可用玻璃棒或类似器材去剥离附着于试管壁和管塞上的凝块,人为剥离是实验室处理不当导致溶血的潜在原因。如果必须将凝块与试管内壁分开或取下管塞时,一定要小心处理。

标本管应一直保持封闭,直到离心后、取出血清或血浆样品前。

5.2 离心阶段

5.2.1 离心时间和相对离心力(RCF)

离心时间为 5 min~10 min,

RCF(以 g 来表示)为 1000~1200×g。

5.2.2 温度控制离心

离心时产热影响分析物的稳定性,有条件时应使用温度控制离心机。某些温度依赖性分析物(促肾上腺皮质激素、环腺苷酸、儿茶酚胺)应在 4℃ 分离;对于没有特殊温度要求的分析物,离心温度应设定在 20℃~22℃。

5.2.3 致冷标本

冷藏运送的标本,应在温度控制的条件下离心。温度低于 15℃ 可以人为地使血钾测定结果增高。

5.2.4 再离心

标本离心应一次完成。若须再次离心,应距上次离心相隔时间很短。但如果标本采集于含有分离物质的采血管中时,不可以再离心。

5.3 离心后阶段

5.3.1 血清/血浆与接触的细胞/凝块的分离

从标本收集时间算起,应在 2 h 内分离血清/血浆,尽可能缩短从标本采集到分离血清/血浆的时间(见 5.1)。

5.3.2 分离的血清或血浆贮存

为保证分析物的稳定性和试验结果的准确性,必须有标本的确切的处理和贮存条件。实验室的室温及血清/血浆的贮存温度,是分析物稳定性的重要参数。

5.3.2.1 已分离的血清/血浆,在22℃保存不超过8h;如果试验在8h内不能完成,血清/血浆应转入冰箱(2℃~8℃)保存。

5.3.2.2 如果试验项目在48h内不能完成,或已分离的标本需贮存48h以上,该标本应于-20℃保存。

5.3.2.3 标本只能冻融一次,不可反复冻融,反复冻融能引起分析物变质。分离的血清或血浆贮存时不可使用无霜冰箱。

5.3.2.4 特殊分析物的血清/血浆的贮存及冻融要求须参照有关文件及厂家说明书等。

5.3.2.5 带分离胶的试管,离心后血清或血浆可以在凝胶屏障上停留一定时间;而应用非凝胶分离物质时,离心后应立即将血清/血浆移出。

5.3.2.6 血清或血浆应一直保持在密闭的试管中(避免与空气接触),以防止可能发生的外源性污染、蒸发、挥发、逸出和喷溅等。

6 血清和血浆分离物质

6.1 血清/血浆分离物质

真空负压采血管内的血清/血浆分离物质(分离胶)必须是具有相应性能证书的产品。工作人员必须按规定要求准确使用。有凝胶物质(见第6.2条)和非凝胶物质(见第6.3条)两种。

6.2 完整的凝胶管系统

该系统由一个真空采血管(硅化塑料管),内含惰性凝胶物质、促凝剂或抗凝剂组成。这种凝胶具有特定的粘度和特殊的、介于血清(或血浆)与凝块之间的比重;真空采血管的试管壁与试管塞均加以处理,有利于清除与其粘附的细胞或凝块。直到需要从该系统中取出血清(或血浆)做试验或予以贮存时,才可将管塞打开。该凝胶管系统包括了不同尺寸的试管。

完整的凝胶管系统具有以下功能:

1) 血清:当血液进入试管,促凝剂(二氧化硅或玻璃微粒)促进血液凝固。将试管(收集的血液)轻柔地颠倒混合数次,可促进完整而快速地凝集。离心过程中,促凝物沿着管壁向上移动,在血清和凝块之间形成一个不可穿透的屏障。用特定的RCF(3 500~15 000×g)离心时,60s~90s内可分离出血清/血浆;用1 000~1 100×g RCF离心10min,可使凝胶完全从管底移至血清和凝块(细胞)之间,形成物理屏障。RCF的大小取决于使用的凝胶管类型(最小的RCF为500×g,离心10min),水平式离心机更易分离,具固定角转头的离心机,离心后必须检查血清是否在凝胶上面。

2) 血浆:用抗凝剂抑制血液凝固。采血时须将收集的血液轻轻颠倒几次,以促进完全抗凝。其余与血清凝胶管系统相同。

6.3 非凝胶物质

非凝胶物质(如玻璃微粒、水晶体、滤器和纤维塞)由各种惰性物质(如玻璃、塑料、纤维和毛类物质)构成。标本收集后将它们轻柔的放入到血管中(以避免引起溶血),并以适当的试管塞盖在试管上(直到离心结束,并取出血清/血浆做试验或贮存)。它们具有介于血清/血浆与凝块之间的特殊比重。离心过程中,这些物质通过血液移动,在血清/血浆与凝块之间形成一个界面。通常用1 000~1 100×g RCF,离心10min即可分离出血清/血浆,但离心后血清或血浆应被移出。

6.4 血清/血浆在分离胶上贮存时间

4℃时血清可在凝胶上贮存24h(有的研究报告可贮存2~7天);关于血浆在凝胶上贮存的研究尚较少。如果在分离胶上贮存血清/血浆,一定要注意保证凝胶屏障的完整性,且试管必须带塞、管口向上垂直放置。

6.5 血清/血浆分离物质有效期

对所有血浆/血清分离物质,都应遵循厂家提供的贮存条件、失效期等,以确保这些物质的正确使用,保证实验结果的可靠性。

6.6 干扰

使用凝胶物质可造成乳酸脱氢酶增高(有统计学意义,但无临床意义)。离子钙、黄体酮、三环抗抑郁药物检测时,不能利用凝胶系统。

附 录 A
(标准的附录)
常用抗凝剂

表 A1 常用抗凝剂

序号	名 称	抗凝原理	用量 (抗凝剂:血液)	适用的测定项目	不适用的 测定项目	注 意
1	草酸钾(100 g/L)	与 Ca^{2+} 形成草酸钙	10 mg (0.1 mL) : 5 mL	ACP AMS LDH	K^+ Ca^{2+}	烘箱温度 55℃, 不可>80℃
2	草酸钠(100 g/L)	与 Ca^{2+} 形成草酸钙	5~10 mg : 5 mL	凝血因子	Na^+ 、 Ca^{2+}	烘箱温度<70℃
3	草酸锂(40 g/L)	与 Ca^{2+} 形成草酸钙	4 mg(0.1 mL) : 2~4 mL	K^+ Na^+ Cl^- UN、Cr Hb 及 Hb 电泳 Fbg...		烘箱温度<70℃
4	草酸铵-草酸钾 (12:8)混合抗凝 剂(20 g/L)	与 Ca^{2+} 形成草酸钙 草酸钾使 RBC 变 小,草酸铵使 RBC 增大,二者 适当比例配合使 用使 RBC 大小保 持不变	0.2 mL : 2 mL	Ht(HCT) 全血及血浆比重	UREA NH_3 (含氮物质)	烘箱温度<80℃
5	肝素锂 (10~30 USP 单 位/mL) 肝素钠 (10~30 USP 单 位/mL)	与抗凝血酶Ⅲ结 合,促进其对凝血 因子Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ、 Ⅴ和凝血酶的凝 血活性的抑制作 用; 抑制血小板凝集	0.5 mg(0.5 mL) : 5 mL 市售:125 IU = 1 mg	pH 血气分析 电解质 钙	锂(不可用肝素锂 抗凝)凝血检验	
6	EDTA- K_2 (1.5~2.2 mg/ mL) EDTA- K_3 (1.5~2.2 mg/ mL) EDTA- Na_2 (1.5~2.2 mg/ mL)	与 Ca^{2+} 结合(螯 合剂)	1 mg : 1 mL	血液学项目及多 数生化项目	Ca^{2+} Fe^{2+} ACP CK LAP 除血小板分离和 检验以外的凝血 试验含氮物质	
7	枸橼酸钠 (38 g/L 或 32 g/ L)	与 Ca^{2+} 结合	1 : 9	凝血试验 ESR	生化检测	

附 录 B
(标准的附录)
常用抗凝剂保存剂

表 B1 常用抗凝剂保存剂(阻止血液成分分解)

序号	组 成	抗凝(保存)剂:血液	备 注 ¹⁾
1	氟化钠 1.0 g 麝香草酚 0.1 g 混合剂	0.5 g : 5 mL	抑制酶活性,不适于酶学检验及酶法尿素测定
2	氟化钠 1.0 g 草酸钾 3.0 g 混合剂	0.02 g : 5 mL	
3	氟化钠 1.0 g 麝香草酚 0.1 g 草酸钾 0.3 g 混合剂	0.03 g : 5 mL	
4	甲醛-草酸钾抗凝(保存)剂	草酸钾抗凝血 5 mL 加 40%甲醛 1 滴	不适于血糖测定
5	碘乙酸钠	2 mg : 2 mL	可用于 Glu、Urea 同时测定 除抑制 CK 外,对其他化学测定 无影响

1) 抗凝(保存)剂 1-4 可使被抗凝(保存)的血液于室温保存 2~3 天(仍可测 Cr、Urea 等)。