Acinetobacter baumannii[J]. Anti Agents Chem,2005,49(8):3198-3202.

[3] Poirel L,Nordmann P. Carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii:mechanisms and epidemiology[J]. Clin Microbiol Infect,2006,12(9):826-836.

[4] Gur D,Korten V,Unal S,et al. Increasing carbapenem resistance due to the clonal dissemination of oxacillinase (OXA-23 and OXA-58)-producing Acinetobacter baumannii:report from the Turkish SENTRY Program sites[J]. J Med Microbiol,2008,57(12):1529-1532.

[5] He C,Xie Y,Fan H,et al. Spread of imipenem-resistant Acinetobacter baumannii of European clone II in Western China[J]. Int J Antimicrob Agents,2011,38(3):257-260.

[6] Jeon BC,Jeong SH,Bae IK,et al. Investigation of a nosocomial outbreak of imipenem-resistant Acinetobacter baumannii producing the OXA-23 beta-lactamase in korea[J]. J Clin Microbiol,2005,43(5):2241-2245.

[7] Bessede E,Angla-Gre M,Delagarde Y,et al. Matrix-assisted laser-desorption/ionization biotyper:experience in the routine of a University hospital[J]. Clin Microbiol Infect,2011,17(4):533-538.

[8] Kusradze I,Diene SM,Goderdzishvili M,et al. Molecular detection of OXA carbapenemase genes in multidrug-resistant Acinetobacter baumannii isolates from Iraq and Georgia[J]. Int J Anti Agents,2011,38(2):164-168.

[9] Hrabak J,Studentova V,Walkova R,et al. Detection of NDM-1,VIM-1,KPC,OXA-48,and OXA-162 carbapenemases by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry[J]. J Clin Microbiol,2012,50(7):2441-2443.

[10] Burckhardt I,Zimmermann S. Using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry to detect carbapenem resistance within 1 to 2.5 hours[J]. J Clin Microbiol,2011,49(9):3321-3324.

[11] Poirel L,Naas T,Nordmann P. Diversity,epidemiology,and genetics of class D beta-lactamases[J]. Antimicrob Agents Chem,2010,54(1):24-38.

[12] Kempf M,Bakour S,Flaudrops C,et al. Rapid detection of carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry[J]. PloS one,2012,7(2):e31676.

(收稿日期:2013-03-19)

·检验技术与方法·

改变离心条件制备乏血小板血浆凝血试验结果比较

王　贞[1],靳　岩[1],马晓露[1],潘佳星[1],杨　冬[2△]

(大连医科大学附属第一医院:1. 检验科;2. 消化内科,辽宁大连 116011)

摘　要:目的　探讨增加离心速度减少离心时间制备乏血小板血浆检测凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血酶原时间(APTT)和纤维蛋白原(FiB)的结果是否与标准操作步骤具有可比性。**方法**　共收集 40 例健康体检者的新鲜血液标本,平均分成两份。使用同一台离心机,分别以 3 000 r/min 离心 10 min,4 000 r/min 离心 5 min,离心分离血浆,使用同一台全自动凝血分析仪测定 PT、APTT 和 FiB,并对结果进行统计学分析和差异性比较。**结果**　4 000 r/min 离心 5 min 的 PT、INR 测定结果与 3 000 r/min 离心 10 min 比较,差异无统计学意义($P>0.05$);4 000 r/min 离心 5 min 的 APTT、FiB 测定结果与 3 000 r/min 离心 10 min 比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。相关回归分析显示两种离心方法显著相关,PT、APTT、FiB 的相关系数分别为 0.975、0.981、0.996。新离心条件下 PT、APTT、FiB 检测结果临床可接受性能的评价均为全部接受。**结论**　可用 4 000 r/min 离心 5 min 的离心方法替代 3 000 r/min 离心 10 min,以达到快速向临床提供准确凝血检验报告的目的,具有较高的临床应用价值。

关键词:凝血试验;　离心速度;　离心时间;　结果比对

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.19.043　　**文献标识码:**A　　**文章编号:**1673-4130(2013)19-2589-03

凝血试验已广泛应用于出血与血栓性疾病的诊断、抗凝药物剂量的监测以及溶栓治疗[1],准确的凝血试验检测结果对疾病的诊断和治疗均具有重要意义。《全国临床检验操作规程》(第 3 版)要求:凝血试验标本的离心速度为 3 000 r/min,离心时间为 10～15 min 以得到乏血小板血浆[2]。但是日益增长的样本量使样本预处理花费了很多时间,特别是急诊手术时,需要快速准确地向临床提供检验报告,以争取患者的最佳抢救时间。因此作者试图探讨增加离心速度、减少离心时间制备乏血小板血浆,比较这种样本制备方法对 APTT、PT、FiB 测定结果是否有影响,以寻求快捷合适的离心条件处理临床标本。

1　资料与方法

1.1　一般资料　收集 2012 年 10 月 15 日至 2012 年 10 月 27 日大连医科大学附属第一医院健康体检及住院患者新鲜血液或血浆标本共 80 例。

1.2　仪器与试剂　CA-6000 全自动血凝分析仪,XE-5000 全自动血细胞分析仪,LEGEND MACH 1.6 高速离心机。所用试剂均为 SIEMENS 公司、SYSMEX 公司配套质控物和试剂。

1.3　方法

1.3.1　离心方法　将经枸橼酸钠抗凝的新鲜血液样本,充分混匀后,吸出约 1 mL 到洁净塑料试管中,使其变成两份相同的血液样本,一份为标准离心条件:离心速度为 3 000 r/min,离心时间为 10 min;另一份改变离心条件:离心速度为 4 000 r/min,离心时间为 5 min。

1.3.2　凝血项目的测定　CA6000 全自动血凝分析仪采用散射比浊法;不同水平的 SIEMENS 质控物均按日常标本操作,测定 1 次/d。质控在控后选择新鲜血浆 8 份,连续收集 5 d,共 40 份标本。测定其标准离心条件下和增加离心速度减少离心时间条件下,血浆样本 PT、APTT、FiB 的值。保证在相同条件下完成检测。

1.3.3　血小板的测定　使用 XE-5000 全自动血细胞分析仪,

△　通讯作者,E-mail:yd613@163.com。

质控在控后选择新鲜血浆 8 份，连续收集 5 d，共 40 份标本。测定其标准离心条件下和增加离心速度减少离心时间条件下，血浆样本 PLT 的值。保证在相同条件下完成检测。

1.4　统计学处理　采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析，采用配对 t 检验、相关回归方法进行分析，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结　　果

2.1　两种离心条件下 PT，APTT，FiB 检测结果统计学分析　4 000 r/min 离心 5 min 的 PT、INR 测定结果与 3 000 r/min 离心 10 min 比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）；4 000 r/min 离心 5 min 的 APTT、FiB 测定结果与 3 000 r/min 离心 10 min 比较，差异有统计学意义（$P<0.05$），见表 1。相关回归分析显示两种离心方法显著相关，PT、APTT、FiB 的相关系数 r 分别为 0.975，0.981，0.996。各测试指标的回归方程见表 2。

表 1　两种离心条件下 PT，APTT，FiB 检测结果的配对 t 检验

项目	n	3 000 r/min 离心 10 min	4 000 r/min 离心 5min	t	P
PT(s)	40	10.20±0.55	10.19±0.53	0.585	0.562
INR	40	0.93±0.05	0.93±0.04	−0.209	0.835
APTT(s)	40	24.49±2.88	24.88±2.74	−4.284	0.000
FiB(g/L)	40	3.08±0.58	3.10±0.57	−2.491	0.017

表 2　两种离心条件下 PT，APTT，FiB 检测结果的回归方程

检测项目	Y	X	回归方程
PT(s)	4 000 r/min 离心 5 min	3 000 r/min 离心 10 min	$Y=0.591+0.941X^1$
APTT(s)	4 000 r/min 离心 5 min	3 000 r/min 离心 10 min	$Y=2.103+0.930X^2$
FiB(g/L)	4 000 r/min 离心 5 min	3 000 r/min 离心 10 min	$Y=0.058+0.988X^3$

相关系数为 $r_1=0.975$，$r_2=0.981$，$r_3=0.996$。

2.2　两种离心条件下 PT，APTT，FiB 检测结果临床可接受性能的评价　参照《临床实验室定量测定室内质量控制指南》规定，以偏差（%）小于《指南》规定的室间质量评价标准的 1/2（PT、APTT：±7.5%；FiB：±10%）为临床可接受标准，以医学决定水平处的偏差是否小于临床可接受标准来判断两种离心条件下的结果是否可以接受。根据待评检测系统（Y）与目标检测系统（X）新鲜血浆 PT、APTT 和 FiB 测定结果的回归方程，PT 的医学决定水平 $X1=14.5$ s，$X2=16$ s，$X3=30$ s，APTT 的医学决定水平 $X1=35$ s，$X2=45$ s，$X3=90$ s，FiB 的医学决定水平 $X1=1.0$ g/L，$X2=5.0$ g/L，将其分别代入各自相应的回归方程得相应的 Y 值，计算偏差（%）$=|Y-X|/X\times100\%$。其临床可接受性能评价见表 3。

表 3　4 000 r/min 离心 5minPT，APTT，FiB 检测结果临床可接受性能的评价

检测项目	医学决定水平	4 000 r/min 离心 5min		
		Y	偏差（%）	可接受标准
PT	$X1=14.5$ s	14.236	1.82	≤7.5%
	$X2=16$ s	15.647	2.21	≤7.5%
	$X3=30$ s	28.821	3.93	≤7.5%
	临床评价		接受	
APTT	$X1=35$ s	34.653	0.99	≤7.5%
	$X2=45$ s	43.953	2.33	≤7.5%
	$X3=90$ s	85.803	4.66	≤7.5%
	临床评价		接受	
FiB	$X1=1.0$ g/L	1.046	4.6	≤10%
	$X2=5.0$ g/L	4.998	0.04	≤10%
	临床评价		接受	

2.3　两种离心条件下 PT、APTT、FiB 检测结果差异性比对　以 1/3 室间质量评价标准作为判断比对是否合格的标准。PT、INR、APTT 的 1/3 室间质量评价标准均为 5%，FiB 的 1/3 室间质量评价标准为 6.7%。差异性比对结果绝大多数小于可接受标准，仅 APTT 中有一例大于 1/3 室间质量评价标准。

2.4　两种离心条件下 PLT 检测结果　4 000 r/min 离心 5 min 的 PLT 测定结果与 3 000 r/min 离心 10 min 比较，差异有统计学意义（$P<0.05$）。

3 讨　　论

血小板能为凝血因子反应提供磷脂表面，若不能去除则会影响凝血试验的测定结果。因此需要将经枸橼酸钠抗凝的全血标本进行适当离心，以制备成乏血小板血浆。离心时要根据相对离心力和离心机的有效半径确定转速，如果离心时间过短或速度不达标，血浆中的血小板就不能被完全分离，从而干扰测定的结果[3]。《全国临床检验操作规程》（第 3 版）要求：凝血试验标本的离心速度为 3 000 r/min，离心时间为 10～15 min。大多数医院血凝项目的离心速度大致为 1 500～3 000 r/min，时间为 10～20 min，各实验室离心机的规格型号也不尽相同，仪器厂家说明书给出的建议也不完全一样，而离心标准不同很容易影响检测过程，造成检验结果的不准确，从而影响临床诊疗过程[4]。

本实验采用增加离心速度减少离心时间（4 000 r/min 离心 5min）来制备乏血小板血浆，结果显示 4 000 r/min 离心 5 min 的 PT、INR 与 3 000 r/min 离心 10 min 比较，差异无显著性意义；而 APTT、FiB 的差异有显著性意义。有研究者采用 3 800 r/min 离心 3 min 来制备乏血小板血浆，发现两种离心条件制备乏血小板血浆 PT、APTT 等 5 个项目的检测结果均无统计学差异，完全可以用 3 800 r/min 离心 3 min 代替 3 000 r/min 离心 10 min[5]。本实验虽然 APTT、FiB 的差异有显著性意义，但依据 NCCLS（EP09-A2）方法学比对文件进行相关回归分析，显示两种离心方法显著相关，PT、APTT、FiB 的相关系数 r 分别为 0.975、0.981、0.996（$r^2>0.950$ 为合适范围），说明两种离心条件的测定结果符合比对要求。按照回归方程计算 4 000 r/min 离心 5 min 条件下 PT、APTT、FiB 在医学决定水平处的偏差，结果均小于 1/2 室间质量评价标准（PT、APTT 7.5%；FiB 10%），说明其准确性完全符合临床要求。

新版中国合格评定国家认可委员会（CNAS）CNAS-CL43《医学实验室质量和能力认可准则在临床血液学检验领域的应用说明》要求每年至少使用 20 份临床标本进行系统间的比对，以内部规范操作检测系统的测定结果为标准，计算相对偏差，每个项目相对偏差小于或等于 1/2 允许总误差的数量应大于或等于 80%。本实验虽然不是两个检测系统间的比对，但两种离心方法相当于方法学比对，也可参照文件执行。由于允许

总误差等同于室间质量评价标准,比对要求应该设为 PT 7.5%、APTT 7.5%、FiB 10%。本实验室根据平时室内质控情况良好且室间质评优秀,将比对标准提高为小于或等于 1/3 允许总误差(即批间精密度标准),即便如此,也仅有一例 APTT 结果超出 1/3 允许总误差,完全符合 CNAS-CL43 文件的要求,说明两种离心方法的凝血项目检测结果具有可比性。

本实验还对两种离心条件下的血浆中 PLT 值进行了测定,并作统计学分析,两者差异有统计学意义($P<0.05$)。3 000 r/min 离心 10 min 后血浆 PLT 平均值为 0.85×10^9/L,4 000 r/min 离心 5 min 后血浆 PLT 平均值为 5.20×10^9/L,后者 PLT 值明显高于前者,说明标准离心方法确实能够分离到近乎无血小板的血浆,充分满足凝血试验的要求。临床实验室标准化协会(CLSI)H21-A4 关于凝血试验标本的采集、运送和处理(第 4 版)要求分离出的血浆 PLT 应小于 10×10^9/L,本研究中 4 000 r/min 离心 5 min 后血浆中 PLT 数值完全符合该规定的要求,不足以影响上述凝血试验项目的比对结果。

国外有研究者报道离心温度等条件对 PT、APTT、FiB、D-Dimer 的影响[6-9],但并未见离心速度对凝血试验结果的探讨。国内有文献认为 APTT 检测的标本离心速度和时间不应低于 3 000 r/min 离心 10 min;如果只针对 PT、FiB 的检测,则可适当缩短离心时间[10]。本文认为 4 000 r/min 离心 5 min 的凝血项目检测结果与标准离心方法具有可比性,在实际工作可以替代标准离心方法,以达到快速向临床提供准确检验报告的目的,具有较高的临床应用价值。

参考文献

[1] 陈晓燕. 临床血栓与止血检验分析的质量保证探讨[J]. 实用医技杂志,2011,18(5):527.
[2] 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,2006:210-211.
[3] 苍金荣,王华,任建康. 凝血与止血检测的质量保证[J]. 现代检验医学杂志,2003,18(6):45-46.
[4] 卢淑兰,王玉红,程树杰. 关于血凝组合项目离心要求的探讨[J]. 中外医学研究,2011,9(13):36.
[5] 张建萍,张静. 增加离心速度减少离心时间制备乏血小板血浆凝血试验结果比较[J]. 中国医学工程,2012,20(4):96.
[6] Salvagno GL,Lippi G,Montagnana M,et al. Influence of temperature and time before centrifugation of specimens for routine coagulation testing[J]. Int J Lab Hematol,2009,31(4):462-467.
[7] Lippi G,Salvagno GL,Montagnana M,et al. Influence of the centrifuge time of primary plasma tubes on routine coagulation testing[J]. Blood Coagul FiBrinolysis,2007,18(5):525-528.
[8] Lippi G,Salvagno GL,Montagnana M,et al. Influence of Centrifuge Temperature on Routine Coagulation Testing[J]. Clin Chem,2006,52(3):537-538.
[9] van Geest-Daalderop JH,Mulder AB. Preanalytical variables and off-site blood collection:influences on the results of the prothrombin time/international normalized ratio test and implications for monitoring of oral anticoagulant therapy[J]. Clin Chem,2005,51(3):561-568.
[10] 郭江梅,邹灵丽. 不同离心时间的凝血测定结果比较[J]. 江西医学检验,2007,25(6):641.

(收稿日期:2013-04-10)

· 检验技术与方法 ·

溶血和标本保存条件对血清 NSE 检验结果的影响

武春梅,李　玲,徐丽萍,杜叶平,李霞莲
(中国人民解放军二六四医院检验科,山西太原 030001)

摘　要:目的　探讨标本放置时间、温度及溶血对血清神经元特异性烯醇化酶(NSE)检测结果的影响。**方法**　应用电化学发光免疫分析法,分别检测在不同温度、放置不同时间及不同溶血程度标本中 NSE 的含量。**结果**　(1)NSE 检测结果随着标本放置时间的延长和保存温度的升高而增高。全血标本在 25 ℃分别放置 1 h 和 4 h 后比较,血清 NSE 检测结果比较差异有统计学意义($P<0.05$);在 4 ℃和 −20 ℃与 25 ℃分别放置 4 h 后比较,检测结果差异有统计学意义($P<0.05$)。(2)溶血对 NSE 检测结果的影响程度与溶血程度呈正相关($r=0.983$)。未溶血标本中 NSE 均值为 7.97 μg/L,当每溶解红细胞释放 1 g/L 血红蛋白时血清 NSE 为 26.75 μg/L,血清 NSE 受溶血干扰程度比较差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论**　血清 NSE 含量会因溶血,全血标本放置时间的延长以及保存温度的升高而增高,溶血标本不适用于临床 NSE 检测。

关键词:神经元特异性烯醇化酶;　时间;　溶血;　温度
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.19.044　　**文献标识码:**A　　**文章编号:**1673-4130(2013)19-2591-03

神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase,NSE)为糖酵解关键酶,主要存在于神经内分泌细胞和这些组织来源的肿瘤组织中[1],以二聚体形式存在,由 α、β、γ 3 种亚基组成,主要有 5 种同工酶(αα,ββ,γγ,αβ,αγ)。有国外文献报道,由于血小板和红细胞中有 NSE 同工酶存在,因此当全血标本存放时间延长或出现溶血时,其中的 NSE 同工酶便释放到细胞外,在血清 NSE 检测时可出现部分交叉免疫反应现象,引起血清 NSE 结果偏高[2-4]。本实验分别就全血标本放置时间、温度以及溶血程度对 NSE 检测水平的影响进行了分析研究,以便为临床提供更加准确、可靠的结果判断依据。

1　资料与方法

1.1　标本来源和采集方法　选取健康体检者 46 例,年龄22～45 岁,规范采集空腹静脉血适量,根据实验目的分别置于 4 个试管中。第 1 管在室温 25 ℃放置 1 h 离心为 1 h 组,第 2 管在室温放置 2 h 离心为 2 h 组,第 3 管在室温放置 4 h 离心为 4 h 组,第 4 管在室温放置 24 h 离心为 24 h 组。取 1 h 组适量血清按实验目的分装在离心管分别于 4 ℃冰箱冷藏和 −20 ℃冰柜冷冻后进行检测。以上标本均无溶血,冷冻血清需全部冻融并充分混匀后测定。

1.2　仪器与试剂　瑞士 Roche E601 全自动电化学发光仪,