

凝血五项质控血浆低温冷冻后复融方式对其稳定性的影响*

曹云^{1a}, 张晓艳^{1a}, 曹德勇², 张瑞³, 辛田田^{1b}

(1. 延安市人民医院 a. 检验科; b. 重症医学科, 陕西延安 716000;

2. 延安大学附属医院东关分院心血管内科, 陕西延安 716000;

3. 延安大学附属医院检验科, 陕西延安 716000)

摘要:目的 探讨凝血五项质控血浆低温冷冻后复融方式对其稳定性的影响, 为实验室成本控制寻找新的理论依据。方法 采用美国 IL 公司 ACL TOP700 全自动凝血分析仪及其配套同批号试剂和质控品进行该项研究; 常规做完质控后, 即将剩余质控品分装到 2 个 EP 管中并冻存于 -40°C , 24 h 后通过室温放置 30 min 和 37°C 水浴快速两种方式复融, 并随当日质控物一起进行检测, 连续收集 20 组数据分析两种复融方式对凝血系列质控品质控参数稳定性的影响。结果 室温复融组复融后测定的 APTT, PT 中值和高值, FIB 中值, D-Dimer 高值复融前后差异均无统计学意义 ($P>0.05$); 而 FIB 高值平均升高 0.23 g/L ($t=4.0269$, $P<0.05$); TT 中值平均缩短 0.46 s ($t=-3.8138$, $P<0.05$), TT 高值平均缩短 0.41 s ($t=-3.9728$, $P<0.05$); D-Dimer 低值平均增加 14.75 ng/ml FEU ($t=2.2816$, $P<0.05$)。 37°C 水浴快速复融组复融后测定的 APTT, PT, FIB, TT, D-Dimer 两个水平差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。结论 商用凝血质控品短期冻融后只要遵循快速复融原则并及时检测, 是可以作为二次质控物来应用, 其他实验室可作为参考。

关键词:凝血质控物; 复融; 稳定性

中图分类号: R446.111 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2017)01-128-03

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2017.01.035

Thawing Modes on Stability of Coagulation Control Products after Frozen

CAO Yun^{1a}, ZHANG Xiao-yan^{1a}, CAO De-yong², ZHANG Rui³, XIN Tian-tian^{1b}

(1a. Department of Clinical Laboratory; 1b. Department of ICU, the People's Hospital of Yan'an,

Shaanxi Yan'an 716000, China; 2. Department of Cardiovascular, Dongguan Branch of

Yan'an University Hospital, Shaanxi Yan'an 716000, China; 3. Department of Clinical Laboratory,

Yan'an University Affiliated Hospital, Shaanxi Yan'an 716000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the thawing modes on stability of coagulation control products after frozen, looking for a new theoretical basis for cost control and the quality and safety of laboratory. **Methods** Using ACL TOP 700 automated coagulation analyzer and supporting the same batch of reagents and quality control materials conduct of the study; after daily QC, recycled the remaining control materials immediately and dispensed into two EP tubes and frozen at -40°C , respectively thawed by room-temperature and 37°C water bath after 24 hours, and examined together with the date of quality control material, got 20 pairs of data for analysis the financial impact of two alternate ways on coagulation QC parameters. **Results** For the room-temperature thawing group, FIB high value increased by an average 0.23 g/L ($t=4.0269$, $P<0.05$); TT normal value average reduction of 0.46 s ($t=-3.8138$, $P<0.05$), TT high value reduced by an average 0.41 s ($t=-3.9728$, $P<0.05$); D-Dimer low-value increased by an average of 14.75 ng/ml FEU ($t=2.2816$, $P<0.05$), while APTT, PT normal and high value, FIB normal value, D-Dimer high value were no significant difference after thawing ($P>0.05$). For the 37°C water bath group, both normal and high value of APTT, PT, FIB, TT and D-Dimer were no significant difference after thawing ($P>0.05$). **Conclusion** The commercialization of coagulation control materials can be for the second QC, just follow the principle of rapid after melting and timely detection, other laboratories can be used as a reference.

Keywords: coagulation quality control; freezing and thawing; stability

活化部分凝血酶原时间 (APTT)、凝血酶原时间 (PT)、凝血酶时间 (TT)、纤维蛋白原 (FIB)、D-二聚体 (D-Dimer) 是临床上常用的血栓与止血筛

查试验, 不仅要求实验室快速报告, 而且要求结果准确可靠。室内质控在凝血试验中起着极为重要的作用^[1,2], 是实验室内对凝血系列检验质量控

* 基金项目: 延安市科技惠民专项 (2015HM-16)。

作者简介: 曹云 (1964—), 女, 本科, 主任检验师, 研究方向: 主要从事临床检验及质量控制方面的研究。

通讯作者: 辛田田, 主治医师, 研究方向: 重症患者凝血稳态变化机制, E-mail: yananznfe@126.com。

制重要的监控手段^[3]。凝血实验影响因素较多,室内质控的难度相对较大,且凝血质控品价格昂贵,复融后效期短,要求当天用完^[4],给实验室带来了较高的成本损耗^[5]。如何在实际工作中兼顾质量安全与成本控制是每个实验室管理人员关心的问题。为此,我科尝试用低温冷冻的方法人为延长复融后质控品的效期以达到节约成本的目的。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器 APTT,PT,TT,FIB,D-Dimer (D-Dimer HS 500)、凝血多项复合质控品(中值、高值),D-Dimer(低值、高值)均为美国 IL 公司产品;ACL TOP700 全自动血凝分析仪为美国 IL 公司产品,TDL-5000B 离心机为上海安亭科学仪器厂产品。

1.2 实验方法 APTT,PT,TT,FIB,D-Dimer 试剂及质控品均严格按照厂家说明书进行复融及配备。采用美国 IL 公司 ACL TOP700 全自动血凝分析仪及其配套同批号试剂和质控品进行该项研究:常规做完质控后,立即将剩余质控品分装到 2 个 EP 管中并冻存于 -40°C ,24 h 后通过室温放置 30 min 和 37°C 水浴快速两种方式复融,并随当日质控物一起进行检测,连续收集 20 组数据分析

两种复融方式对凝血系列质控品质控参数稳定性的影响。

1.3 统计学分析 使用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计分析。APTT,PT,TT,FIB,D-Dimer 参数值用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用配对 t 检验进行不同实验组之间的比较,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 室温放置和 37°C 水浴快速复融两种复融方式对 APTT,PT,TT,FIB 中值和高值稳定性的影响 见表 1。室温复融组复融后测定的 APTT,PT 中值和高值、FIB 中值复融前后差异均无统计学意义(t 值分别为 0.718,0.086 1; -1.370 6; -1.365 5,1.537 3,均 $P>0.05$);而 FIB 高值平均升高 0.23 g/L,差异有统计学意义($t=4.026$ 9, $P<0.05$);TT 中值平均缩短 0.46 s($t=-3.813$ 8, $P<0.05$),TT 高值平均缩短 0.41s($t=-3.972$ 8, $P<0.05$)。 37°C 水浴快速复融组复融后测定的 APTT,PT,TT,FIB 低值和高值两个水平冻融前后差异均无统计学意义(t 值分别为 1.330 3,0.404 8; -1.190 7, -0.267 4; -1.405 3, -1.710 2;1.881 4,1.548 6,均 $P>0.05$)。

表 1 两种复融方式对 APTT,PT,TT,FIB 两水平稳定性的影响($\bar{x}\pm s$)

组 别	APTT(s)		PT(s)		TT(s)		FIB(g/L)	
	中值	高值	中值	高值	中值	高值	中值	高值
冻融前(定值)	30.32 \pm 0.40	59.43 \pm 0.82	11.37 \pm 0.20	41.56 \pm 1.09	13.63 \pm 0.57	17.13 \pm 0.61	3.13 \pm 0.16	2.08 \pm 0.10
室温复融组	30.45 \pm 0.81	59.36 \pm 1.21	11.26 \pm 0.35	41.26 \pm 1.14	13.17 \pm 0.50	16.72 \pm 0.63	3.30 \pm 0.17	2.31 \pm 0.3
37°C 水浴复融组	30.47 \pm 0.55	59.52 \pm 0.75	11.32 \pm 0.21	41.53 \pm 1.01	13.58 \pm 0.54	17.07 \pm 0.68	3.17 \pm 0.16	2.12 \pm 0.12

2.2 室温放置和 37°C 水浴快速复融两种复融方式对 D-Dimer 低值和高值稳定性的影响 见表 2。室温复融组复融后测定的 D-Dimer 高值复融前后差异无统计学意义($t=1.599$ 8, $P>0.05$);而 D-Dimer 低值平均增加 14.75 ng/ml FEU($t=2.281$ 6, $P<0.05$)。 37°C 水浴快速复融组复融后测定的 D-Dimer 低值和高值两个水平差异均无统计学意义(t 值分别为 0.799 0,0.452 6,均 $P>0.05$)。

表 2 两种复融方式对 D-Dimer 两水平稳定性的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	D-Dimer(ng/ml FEU)	
	低值	高值
冻融前(定值)	728.75 \pm 32.96	2 620.75 \pm 75.56
室温复融组	743.50 \pm 26.48	2 654.3 \pm 84.59
37°C 水浴复融组	731.15 \pm 27.15	2 624.55 \pm 65.69

3 讨论 随着医学检验的不断发展,凝血-止血功能检查在术前检查、抗凝、溶栓监测、出血性疾病、血栓性疾病诊断和治疗等方面具有越来越重要的临床意义,其检测质量的准确性与可靠性倍受重视^[6],而室内质量控制是保证凝血试验检测准确、稳定的重要手段。凝血质控品绝大多数为冻干血浆,复融后于原装小瓶中 $15^{\circ}\text{C}\sim 25^{\circ}\text{C}$ 可保存 4~24 h, $2^{\circ}\text{C}\sim 8^{\circ}\text{C}$ 环境下可保存 8~24 h^[7~10],因此,在低温环境下保存时间更长^[11,12]。

为了人为延长质控品的效期,本研究采用 -40°C 低温冷冻当日剩余质控品进行复融后二次测定并对复融方式进行了探讨:通过对室温复融放置 30 min 慢融和 37°C 水浴快速复融对结果的影响观察,证明对于维持复融后质控物的稳定性采用低温冷冻、 37°C 水浴快速复融优于低温冷冻、室温慢融。由此说明只要遵循快速融化的原则,就能充分保存凝血因子的生物活性,从而保证 APTT,PT,TT,

FIB, D-Dimer 结果的稳定性,与文献报道的一致^[5]。因此,当日剩余商用质控品通过低温冷冻、快速复融的方式完全可以作为次日的质控物进行日常室内质控,完全可以满足实验室的质量控制目标。此方法有以下几个优点:①与自制凝血质控品相比,此法不需要特殊的设备,操作方便;②一定程度上减少了冻干质控品每次复融所带来的瓶间差^[13,14],减少了室内质控项目的不精密度;③可以节约一半的质控成本。其他实验室可参考借鉴。

参考文献:

- [1] 朱忠勇. 凝血酶原时间和活化部分凝血活酶时间测定标准化[J]. 中华医学检验杂志, 1998, 21(5): 308-312.
Zhu ZY. Standardization of prothrombin time and activated partial thrombin time determination[J]. Chinese Journal of Medical Laboratory Sciences, 1998, 21(5): 308-312.
- [2] 丛玉隆. 积极开展血栓与止血实验及质量控制[J]. 中华医学检验杂志, 1998, 21(5): 261-262.
Cong YL. Actively developing thrombosis and hemostasis testing and quality control[J]. Chinese Journal of Medical Laboratory Sciences, 1998, 21(5): 261-262.
- [3] 中华人民共和国卫生部. 卫生部关于印发《医疗机构临床实验室管理办法》的通知. 2006.
People's Republic of China Ministry of Health. Ministry of Health on the issuance of "medical institutions, clinical laboratory management approach". 2006.
- [4] 况妮娜. 凝血质控品复溶后稳定性研究[J]. 安徽医学, 2012, 33(7): 897-898.
Kuang NN. Stability of coagulation quality control materials after reconstitution [J]. Anhui Medicine Journal, 2012, 33(7): 897-898.
- [5] 华丽姿. 自制凝血质控物稳定性及复融方式探讨[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(10): 1299-1301.
Hua LZ. Discussion on the stability and thawing mode of homemade coagulation quality control[J]. Laboratory Medicine and Clinical, 2013, 10(10): 1299-1301.
- [6] 苍金荣, 王 华, 任建康. 凝血/止血检测的质量保证[J]. 现代检验医学杂志, 2003, 18(6): 45-46.
Cang JR, Wang H, Ren JK. Quality assurance of coagulation and hemostasis testing[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2003, 18(6): 45-46.
- [7] 李曼辉, 杨宇勤, 姚元超. 健康者混合血浆制备凝血质控物及其稳定性的探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(7): 809-810.
Li MH, Yang YQ, Yao YC. Explore the stability of coagulation control plasma prepared from healthy mix [J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2011, 32(7): 809-810.
- [8] Zhao Y, Lü G. Influence of temperature and storage duration on measurement of activated partial thromboplastin time, D-dimers, fibrinogen, prothrombin time and thrombin time, in citrate-anticoagulated whole blood specimens[J]. Int J Lab Hematol, 2013, 35(5): 566-570.
- [9] Feng L, Zhao Y, Zhao H, et al. Effects of storage time and temperature on coagulation tests and factors in fresh plasma[J]. Sci Rep, 2014(4): 3868.
- [10] Mohammed Saqhir SA, Al-Hassan FM, Alsalahi OS, et al. Optimization of the storage conditions for coagulation screening tests[J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2012, 22(5): 294-297.
- [11] 常 萍, 史清海, 刁 彤, 等. 凝血 5 项试验室内质控血浆的制备及应用评价[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(11): 1357-1358.
Chang P, Shi QH, Diao T, et al. Preparation and evaluation of coagulation five internal quality control test plasma[J]. Laboratory Medicine and Clinical, 2012, 9(11): 1357-1358.
- [12] 平竹仙, 孙 武, 蒋红君, 等. 自制凝血室内质控品的使用与评估[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(20): 2841-2842.
Ping ZX, Sun W, Jiang HJ, et al. Use and evaluation of homemade clotting internal quality control products[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2014, 35(20): 2841-2842.
- [13] 叶 健. 自制凝血质控品的应用及评价[J]. 医学检验与临床, 2015, 26(5): 77, 79.
Ye J. Application and evaluation of self-coagulation control materials[J]. Medical Laboratory Science and Clinical, 2015, 26(5): 77, 79.
- [14] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2003: 155-156.
Feng RF. Basis for clinical laboratory quality management techniques[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Literature Press, 2003: 155-156.

收稿日期: 2016-05-16

修回日期: 2016-09-05