

CA-50 型血凝仪检测冷沉淀Ⅷ因子及 Fbg 的方法确认

高均翠¹

[摘要] 目的:探讨 CA-50 型血凝仪是否适用于采供血机构冷沉淀Ⅷ因子、Fbg 的质量检测需求,对其方法进行确认。方法:对 CA-50 型血凝仪检测不同浓度标准品所建立的标准曲线进行回归分析;采用不同水平的质控品对其检测Ⅷ因子、Fbg 精密度、正确度进行了测试;同时与 CA-6000 型全自动血凝仪检测 50 袋冷沉淀血浆Ⅷ因子、Fbg,比较其与全自动血凝仪检测结果的可比性;采用血红蛋白、游离型胆红素、结合胆红素、乳脂蛋白 4 种主要干扰物质对其抗干扰功能进行了测试。结果:该仪器检测标准品Ⅷ因子、Fbg 标准曲线 $|r|$ 分别为 0.9991、0.9994;Ⅷ因子、Fbg 正常水平质控品批内精密度分别为 0.92%、0.85%,日间精密度分别为 1.12%、0.98%;异常水平批内精密度分别为 0.47%、1.14%,日间精密度分别为 1.05%、1.57%;正确度试验水平 1 和水平 2 偏倚,Ⅷ因子分别为 -0.3、0.5, Fbg 分别为 -0.2、-0.3;与 CA-6000 型全自动血凝仪检测相关性 r 值,Ⅷ因子、Fbg 分别为 0.996、0.999;4 种主要干扰物质对其检测的影响度均在 $\pm 4.95\%$ 以内。结论:CA-50 型血凝仪检测Ⅷ因子、Fbg 标准曲线相关性良好,结果重复性好,精密度和正确度高,具有较高的准确度,与全自动血凝仪有很好的可比性,有较强的抗干扰功能,能够满足采供血机构冷沉淀Ⅷ因子、Fbg 的质量检测需求。

[关键词] 血凝仪;冷沉淀;Ⅷ;Fbg;方法确认

[中图分类号] R57.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1004-2806(2012)10-0657-04

根据《全血及成分血质量要求》及《血站技术操作规程(2012)版》对冷沉淀凝血因子质量控制要求,容量 (25 ± 5) ml/袋冷沉淀血浆,Ⅷ因子 ≥ 80 U/袋, Fbg ≥ 150 mg/袋,本站质量管理部门实验室采用 CA-50 型血凝仪对其进行Ⅷ因子、Fbg 质量检测。为确保该仪器适用于冷沉淀凝血因子的质量控制检测需求,根据国际血液学标准化委员会(ICSH)^[1]的要求,我们对其进行了方法确认,内容包括批内及日间精密度、正确度、可比性和抗干扰功能等,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 仪器

Sysmex CA-50 型血凝仪(日本希森美康株式会社生产,仪器号:A3222);Sysmex CA-6000 型血凝仪(日本希森美康株式会社生产)。

1.2 对象

随机抽取本站 2012 年 1—2 月严格按照文献[2]规定分离制备的冷沉淀血浆 50 份(均为 ALT < 40 U/L、HBsAg(-)、抗-HCV(-)、抗-HIV(-)及梅毒抗体(-),且无纤维蛋白析出、无黄疸、无气泡、无重度乳糜)。

1.3 材料与试剂

50~100 μ l 微量加样枪(芬兰)、去离子水(当天新制备)、混合血浆(为本站保存期 1 年内 FFP 混合而成);以下试剂均为德国西门子公司生产,标准血浆(Standard Plasma,批号:5032185A,Ⅷ因子:90%、Fbg:248 mg/dl)、乏Ⅷ因子血浆(批号:546539)、纤维蛋白原标准试剂(Fbg,批号:

537963A)、氯化钙(CaCl_2 ,批号:539460)、缓冲液(批号:547003)、APTT 试剂(批号:537497A)、干扰物质(批号:79297,包括血红蛋白 51 g/L,游离胆红素 1.77 g/L,结合胆红素 1.94 g/L,乳脂蛋白 24 000 Formazine 浊度单位(包括中性脂肪 8.5 g/L,磷脂 9.1 g/L,游离脂肪酸 620 μ mol/L 和牛白蛋白 25.0 g/L)、Ⅷ因子正常凝血质控 N(批号:503159A,71%~115%)、Ⅷ因子异常凝血质控(批号:572198,18.0%~24.8%)、Ⅷ因子水平 1 质控(批号:542159,152%~271%)、Ⅷ因子水平 2 质控(批号:517193,17.8%~35%)、Fbg 正常凝血质控 1(批号:548163,204~264 mg/dl)、Fbg 异常凝血质控(批号:504165,50~80 mg/dl)、Fbg 水平 1 质控(批号:537691,197~252 mg/dl)、Fbg 水平 2 质控(批号:526487,62.0~72.8 mg/dl)。

1.4 标准曲线的建立

用去离子水溶解完全并充分混匀的标准血浆,分别建立 CA-50 型血凝仪测定Ⅷ因子、Fbg 的标准曲线。①Ⅷ因子标准曲线:用缓冲液将标准血浆进行 5、10、20、40、80 倍稀释后测试;②Fbg 的标准曲线:用缓冲液将标准血浆进行 5、10、20、40 倍稀释后测试;③标准曲线回归分析:以上述测试获得的不同浓度的Ⅷ因子(或 Fbg)凝固时间(S)为 Y,Ⅷ因子(或 Fbg)标准血浆浓度为 X,进行对数回归, $\log Y = a + b \log X$,要求 $|r| \geq 0.98$ 。

1.5 精密度试验

参照 NCCLS EP5-A2 文件的要求选取正常或异常的质控血浆检测Ⅷ因子、Fbg,了解 CA-50 的重复性, $CV < 5\%$ 为可接受。①批内精密度:上述 2 个项目分别在 3 h 内连续测定 20 次,计算均值($\bar{x}$)、标准差(s)、变异系数(CV);②日间精密度:选

¹ 宜昌市红十字中心血站(湖北宜昌,443005)

通信作者:高均翠, E-mail:18972510698@189.cn

取正常和异常质控品各 1 份,分别分装成 5 份,冻存于 -20°C 冰箱。每天取出 2 个水平的质控品各 1 份,每日测定上述 2 个项目分别 4 次,连续测定 5 d,计算日间 20 次均值($\bar{x}$)、标准差(s)、变异系数(CV)。

1.6 正确度试验

CA-50 型血凝仪经校准、日常维护保养后,分别取 2 个水平的定值质控品检测Ⅷ因子、Fbg,重复测定 20 次,对测定数据计算出偏倚,验证其正确性。

1.7 CA-50 和 CA-6000 型血凝仪测定结果的相关性比较

取上述抽取的 50 份冷沉淀标本在 37°C 水浴 6 min 内解冻,充分混匀留样,Ⅷ因子和 Fbg 2 个目标本分别用缓冲液进行 100 和 20 倍稀释后,在 2 台仪器上分别测定 2 次取均值($\bar{x}$),比较 2 台仪器测定结果的相关性(r)。

1.8 主要干扰物质对仪器检测功能的影响

根据 NCCLS 制定的“临床化学干扰试验”指南(EP7 文件)^[4]的要求,对仪器的抗干扰功能进行评价,评价的项目包括 Fbg、Ⅷ因子。①4 种干扰物质分别用混合血浆稀释后混匀,待测血浆加入干扰物质的浓度分别为:血红蛋白($0\sim 5.1$)g/L,游离型胆红素($0\sim 0.177$)g/L,结合胆红素($0\sim 0.194$)g/L,乳脂蛋白($0\sim 2\ 400$)度;②用加入不同浓度干扰物的待测血浆在 CA-50 血凝仪上分别测定 Fbg、Ⅷ因子各 2 次,取均值($\bar{x}$);③以未加干扰物血浆的测定值为标准,计算出影响度作为评价指标。影响度的计算公式为:加入干扰物的血浆测定值-未加干扰物的血浆测定值/未加干扰物的血浆测定值 $\times 100\%$ 。

1.9 统计学处理

采用 SPSS17.0 统计软件对检测数据进行分析,计量资料用均值($\bar{x}$)、标准差(s)表示,回归方程相关性检验用 r 表示、方差分析用 F 检验, r 值有效性采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

CA-50 检测Ⅷ、Fbg 因子回归分析见表 1、表 2。CA-50 血凝仪精密度试验测定结果见表 3。CA-50 血凝仪正确度试验测定结果见表 4。CA-50 和 CA-6000 型血凝仪测定 50 份冷沉淀Ⅷ因子结果的相关性比较见图 1。

表 1 CA-50 检测Ⅷ标准曲线回归分析

稀释倍数	5	10	20	40	80
Ⅷ因子浓度/%	180.0	90.0	45.0	22.5	11.3
反应时间/s	48.6	57.9	66.6	76.9	89.0

注:回归方程: $\log Y = 1.7469 - 0.2158 \log X$; $|r| = 0.9991$ 。

表 2 CA-50 检测 Fbg 标准曲线回归分析

稀释倍数	5	10	20	40
Fbg 浓度/(mg·dl ⁻¹)	496.0	248.0	124.0	62.0
反应时间/s	5.1	8.8	16.7	31.2

注:回归方程: $\log Y = 3.0586 - 0.8763 \log X$; $|r| = 0.9994$ 。

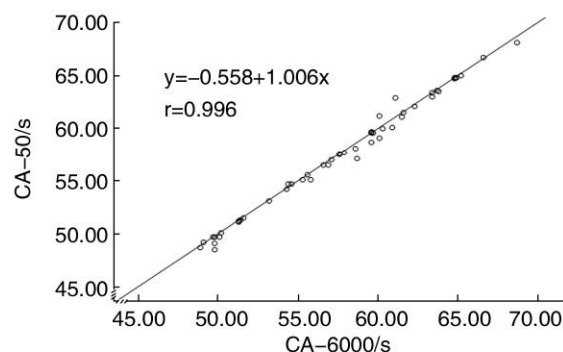


图 1 CA-50 与 CA-6000 测定Ⅷ因子相关性散点图

注:上述回归模型方差分析 $F = 59.470$, $P = 0.000$; 相关系数 t 检验, $t = -0.725$, $P = 0.000$,表明所建立的回归模型与相关系数有统计学意义。

CA-50 和 CA-6000 型血凝仪测定 50 份冷沉淀 Fbg 结果的相关性比较见图 2。

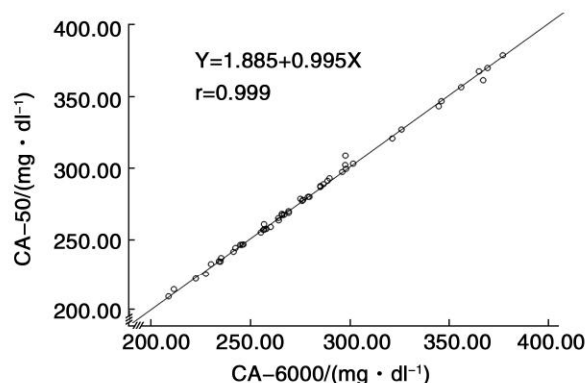


图 2 CA-50 与 CA-6000 测定 Fbg 相关性散点图

注:上述回归模型方差分析 $F = 17829.774$, $P = 0.000$; 相关系数 t 检验, $t = -0.899$, $P = 0.000$,表明所建立的回归模型与相关系数有统计学意义。

干扰试验测定结果见表 5、表 6、表 7。

3 讨论

CA-50 血凝仪是应用光散射的原理进行各项凝血项目的检测,仪器体积较小,且操作简便,适合标本量少的实验室。按要求,采供血机构冷沉淀凝血因子Ⅷ、Fbg 检测是每月质量抽检必检项目,每月抽样量为制备量的 1%或至少 4 袋,检测一般为 12 次/年,不属于每日常规检测。上述结果表明 CA-50 血凝仪测定Ⅷ、Fbg:①标准曲线

表 3 CA-50 血凝仪精密度的试验测定结果

参数	批内						批间					
	正常水平			异常水平			正常水平			异常水平		
	$\bar{x}$	s	CV/%	$\bar{x}$	s	CV/%	$\bar{x}$	s	CV/%	$\bar{x}$	s	CV/%
Ⅷ反应时间/s	54.5	0.5	0.92	80.1	0.38	0.47	60.7	0.68	1.12	88.7	0.93	1.05
Fbg/(mg·dl ⁻¹)	253.0	2.15	0.85	74.0	0.84	1.14	246.0	2.41	0.98	68.0	1.07	1.57

表 4 CA-50 血凝仪正确度的试验测定结果

参数	水平 1				水平 2			
	靶值	$\bar{x}$	偏倚	允许范围	靶值	$\bar{x}$	偏倚	允许范围
Ⅷ/s	49	48.7	-0.3	45~51	76.9	77.4	0.5	70~81
Fbg/(mg·dl ⁻¹)	211.0	210.8	-0.2	197.0~252.0	68.0	67.7	-0.3	62.0~71.8

表 5 血红蛋白对 Fbg、Ⅷ因子测定结果的影响

Hb 浓度/ (mg·L ⁻¹)	Fbg/ (mg·L ⁻¹)	影响度/ %	Ⅷ因子/ %	影响度/ %
0	2 526	0	101	0
460	2 526	0	100	-0.99
920	2 480	-1.82	99	-1.98
1 380	2 474	-2.06	99	-1.98
1 840	2 500	-1.03	105	3.96
2 300	2 488	-1.50	101	0
2 760	2 474	-2.06	102	0.99
3 220	2 408	-4.67	96	-4.95
3 680	2 458	-2.69	97	-3.96
4 140	2 486	-1.58	103	1.98
4 600	2 492	-1.35	98	-2.97

表 6 乳脂蛋白对 Fbg、Ⅷ因子测定结果的影响

浓度(Formazine 浊度单位)	Fbg/ (mg·L ⁻¹)	影响度/ %	Ⅷ因子/ %	影响度/ %
0	2 526	0	101	0
240	2 526	0	103	1.98
480	2 577	2.02	101	0
720	2 526	0	103	1.98
960	2 508	-0.71	101	0
1 200	2 520	-0.24	99	-1.98
1 440	2 515	-0.44	96	-4.95
1 680	2 537	0.44	98	-2.97
1 920	2 530	0.16	100	-0.99
2 160	2 587	2.42	106	4.95
2 400	2 549	0.91	97	-3.96

表 7 游离胆红素、结合胆红素对 Fbg、Ⅷ因子测定结果的影响

测定物	测定物浓度/ (mg·L ⁻¹)	Fbg/ (mg·L ⁻¹)	影响度 /%	Ⅷ因子 /%	影响度 /%
游离胆红素	0	2 526	0	101	0
	17.7	2 526	0	101	0
	35.4	2 575	1.94	96	-4.95
	53.1	2 526	0	103	1.98
	70.8	2 554	1.11	105	3.96
	88.5	2 462	-2.53	99	-1.98
	106.2	2 561	1.39	97	-3.96
	123.9	2 471	-2.18	102	0.99
	141.6	2 540	0.55	101	0
	159.3	2 589	2.50	97	-3.96
结合胆红素	177.0	2 495	-1.23	96	-4.95
	0	2526	0	101	0
	19.4	2 555	1.15	101	0
	38.8	2 550	0.95	105	3.96
	58.2	2 526	0	102	0.99
	77.6	2 548	0.87	99	-1.98
	97.0	2 526	0	97	-3.96
	116.4	2 559	1.31	103	1.98
	135.8	2 544	0.71	98	-2.97
	155.2	2 497	-1.15	96	-4.95
	174.6	2 577	2.02	102	0.99
	194.0	2 554	1.11	96	-4.95

相关系数 $|r|$ 值均在 0.999 以上,线性良好;②Ⅷ、Fbg 精密度:a 批内精密度,正常水平质控品分别在 0.92%和 0.85%范围内,异常水平质控品分别在 0.47%和 1.14%范围内;b 日间精密度,正常水平质控品分别在 1.12%和 0.98%范围内,异常水平质控品分别在 1.05%和 1.57%范围内,且均 $\leq 5\%$;③正确度试验偏倚在允许范围内;②、③显示 CA-50 血凝仪测定Ⅷ、Fbg 结果重复性好,精密度和正确度高,

具有较高的准确度。④CA-50 与 CA-6000 血凝仪检测 50 份冷沉淀液Ⅷ、Fbg 结果的相关性系数均在 0.996 以上,表明 CA-50 半自动血凝仪与全自动血凝仪有很好的可比性;⑤CA-50 有较强的抗干扰功能,各干扰物对其影响度均在 $\pm 4.95\%$ 以内,所有测定的影响度均未超出美国 CLIA'88 规定的允许偏差范围 $\pm 20\%$ 。综上所述,CA-50 在方法学和资源配置上均能满足采供血机构冷沉淀凝血因子Ⅷ和 Fbg

质量控制的检测需求。

同时,笔者结合确认过程中的一些认识,提出几个 CA-50 在冷沉淀凝血因子Ⅷ、Fbg 质量抽检检测过程中应注意的几个问题:①环境温度控制在(15~35)℃内,最适合温度为 23℃;相对湿度控制在 30%~85%内;②标准曲线的建立非常重要,每月检测前和更换试剂批号后,均应重新建立标准曲线;③在测定标本前,必须先做室内质控,室内质控结果在允许范围内时方可测定标本;④由于标本的稀释及加样需手工操作,故对加样器的校准非常重要,必须使用

校准合格的加样器;⑤预温槽内不可放入 2 ml 以上的试剂;⑥试剂在 37℃预温槽内放置时间要严格按照试剂说明书的要求进行限定,放置时间过短或延长对测定结果会产生较明显的影响;⑦标本解冻后在 4 h 内进行测试。

参考文献

- [1] MOHAMMED A, MELHRABANI P A, COOMBS R, et al. The MDA-180 coagulation analyzer: a laboratory evaluation[J]. Pathology, 1997, 29: 176-183.

(收稿日期:2012-04-08)

成分制备环节溶血血浆报废原因分析与对策

肖鲲¹ 王志红¹ 朱丽莉¹ 吕运来¹

[摘要] 目的:通过改进成分制备方法等措施,降低溶血血浆报废率。**方法:**统计溶血血浆报废情况,分析溶血血浆报废率增高的原因。**结果:**194 袋溶血血浆与季节、制备温度和制备时间等有关,采取措施后报废率由 0.049%降低至 0.001%。**结论:**经加强人员培训,控制制备温度和适当延长制备时间等措施,2011 年 2 月后溶血血浆明显减少。

[关键词] 成分制备;溶血;血浆;报废率

[中图分类号] R457.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1004-2806(2012)10-0660-02

自 2006 年《血站管理规范》、《血站实验室管理规范》实施以来,各血站均制定了完善的质量管理体系文件,并严格按照标准操作规程进行工作。我站血液成分制备主要为悬浮少白细胞红细胞、洗涤红细胞、新鲜冰冻血浆、病毒灭活血浆、冷沉淀等,制备环节对控制血液制品质量至关重要。在每个考核年度结束进行血液报废情况分析时,发现溶血血浆报废比例明显升高,后采取轻轻混匀、适当延长复温时间等措施,使报废率显著降低。现将溶血血浆报废情况进行分析,报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

2009-02—2012-01 共采集全血 195 897 袋,391 794 U,经全血制备成悬浮少白细胞红细胞的制备率 99.8%左右,全部血液标本经检验科检测。

成分制备血浆报废原因主要有脂肪浆、溶血血浆、破袋等。在此期间全血滤除白细胞分离悬浮少白细胞红细胞后,经 2 次离心颜色微红的成品血浆即溶血血浆共 194 袋,388 U。

1.2 溶血血浆判定

血浆外观微红应检测血红蛋白,滤白后成品血浆见 GB18469-2001《全血及成分血质量要求》中全血保存期末的血红蛋白正常值 ≤ 720 mg/L。经检测 194 袋血浆血红蛋白为 (122 ± 12) mg/L。

1.3 统计学处理

用 SPSS11.5 进行统计学分析。

2 结果

溶血血浆报废情况,见表 1。溶血血浆与复温时间和制备温度的关系,见表 2。

表 1 2009-02—2012-01 成分制备红细胞量与溶血血浆量对比

袋(%)

月份	2009 年		2010 年		2011 年	
	红细胞量	溶血血浆量	红细胞量	溶血血浆量	红细胞量	溶血血浆量
2~4	15 376	20(0.013)	15 768	23(0.015)	16 647	4(0.002)
5~7	15 081	5(0.003)	17 114	3(0.002)	18 711	4(0.002)
8~10	15 131	12(0.007)	16 696	11(0.007)	16 040	5(0.003)
11~1	15 764	23(0.015)	16 860	82(0.049)	16 709	2(0.001)
合计	61 352	60(0.009)	66 438	119(0.018)	68 107	15(0.002)

注:溶血血浆报废率=溶血血浆/成分制备红细胞量。

¹ 洛阳市中心血站(河南洛阳,471000)
通信作者:肖鲲, E-mail:150088025@qq.com