

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.14.009

冷沉淀凝血因子Ⅷ检测的影响因素探讨*

方育如,孙爱农[△],林惠燕,郑晓兰,袁文声

广东省中山市中心血站质管科,广东中山 528400

摘要:目的 探讨冷沉淀凝血因子Ⅷ(Ⅷ因子)检测的影响因素,为冷沉淀的质量保证和质控抽检分析提供科学依据。**方法** 随机抽检 2020 年 1—12 月制备的冷沉淀 30 袋,从冷沉淀解冻时间长短、试管材质选择、试剂保存温度、标本保存温度和检测时间等多方面进行Ⅷ因子水平检测。**结果** 冷沉淀融解时间超过 30 min 后,Ⅷ因子水平明显减少($P < 0.05$);3 种材质试管留取标本检测显示,塑料与普通试管Ⅷ因子水平差异无统计学意义($P > 0.05$),涂膜血凝管Ⅷ因子水平最低($P < 0.05$);24℃室温保存和冰冻后 37℃复苏的试剂,Ⅷ因子水平差异无统计学意义($P > 0.05$);融解后冷沉淀标本,-25℃保存 24 h、4℃保存 8 h、24℃保存 4 h 内Ⅷ因子水平与 0 h 比较差异无统计学意义($P > 0.05$),4℃12、24 h 及 24℃8、12、24 h Ⅷ因子水平降低($P < 0.05$)。**结论** 为防止Ⅷ因子活性降低,冷沉淀在 37℃解冻时应控制在 10 min 内,融解后标本使用塑料或普通试管保存,检测试剂可放置于 24℃室温保存,冷沉淀融解后标本需要尽快完成检测。

关键词:质量抽检; 冷沉淀; 凝血因子Ⅷ; 影响因素

中图分类号:R457.1+4

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)14-2019-04

Discussion on the influencing factors of cryoprecipitated blood coagulation factor Ⅷ*FANG Yuru, SUN Ainong[△], LIN Huiyan, ZHENG Xiaolan, YUAN Wensheng

Department of Quality Control Section, Zhongshan Central Blood Station, Zhongshan, Guangdong 528400, China

Abstract: Objective To explore the influencing factors of cryoprecipitate coagulation factor Ⅷ detection, and provide scientific basis for the quality assurance and quality control sampling analysis of cryoprecipitate. **Methods** Randomly sample 30 bags of cryoprecipitate prepared from January to December 2020. From the length of cryoprecipitate thawing time, test tube material selection, storage temperature, specimen storage temperature and detection time, the level of coagulation factor Ⅷ were tested. **Results** After the cryoprecipitate thawing time exceeded 30 minutes, the level of factor Ⅷ was significantly reduced ($P < 0.05$). The test of specimens collected from three kinds of test tubes showed that there was no statistically significant difference in the level of factor Ⅷ between plastic and ordinary test tubes ($P > 0.05$), membrane coagulation tube factor Ⅷ level was the lowest ($P < 0.05$). For reagents stored at room temperature at 24℃ and resuscitated at 37℃ after freezing, there was no significant difference in factor Ⅷ level ($P > 0.05$). Cryoprecipitated specimens after thawing, stored at -25℃ for 24 h, 4℃ for 8 h, 24℃ for 4 h, there was no significant difference in factor Ⅷ levels compared with 0 h ($P > 0.05$), 4℃ for 12, 24 h and 24℃ for 8, 12, and 24 h, Ⅷ levels decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** In order to prevent the decrease of factor Ⅷ activity, the cryoprecipitate thawed at 37℃ should be controlled within 10 min. After thawing, the specimens should be stored in plastic or ordinary test tubes. The test reagents can be placed at room temperature of 24℃. After thawing, the specimens need to be detected as soon as possible.

Key words: quality sampling; cryoprecipitate; coagulation factor Ⅷ; influencing factors

冷沉淀凝血因子Ⅷ(Ⅷ因子)是冷沉淀中的主要成分,Ⅷ因子水平达标与否是冷沉淀血液质量抽检的

* 基金项目:广东省中山市医学科研项目(2020J233)。

作者简介:方育如,女,主管护师,主要从事血液质量管理相关研究。△ 通信作者,E-mail:sunainong8@sina.com。

本文引用格式:方育如,孙爱农,林惠燕,等.冷沉淀凝血因子Ⅷ检测的影响因素探讨[J].检验医学与临床,2021,18(14):2019-2021.

关键控制点,是评估该成分血质量的重要参数。

按照国家对冷沉淀质量要求的相关规定^[1-2],采供血机构(血液中心/血站)每月至少要选取4袋冷沉淀用于质量抽检,其中Ⅷ因子水平合格率应 $\geq 75\%$ 。目前对Ⅷ因子水平影响因素的研究多集中在制备工艺上^[3-4],对试验检查影响因素较少关注。因此,本研究通过控制冷沉淀融解时间、使用合适的材质试管、设定试剂保存条件等,探讨冷沉淀凝血因子Ⅷ检测的影响因素,从而选择最佳试验条件,提高冷沉淀Ⅷ因子水平检测的准确性,现将相关研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 随机选取中山市中心血站2020年1—12月制备的冷沉淀30袋。

1.2 仪器与试剂 JXH-I型冰冻血浆解冻箱购自广州金炫映公司;Coatron1800全自动凝血仪购自德国德高公司,所有仪器每年定期由厂家校准及维护;检测试剂为Ⅷ因子活性测定试剂(凝固法,批号547687A)、CaCl₂溶液(批号563853)、校准品(批号503274B)、正常范围定值质控血浆(批号507765A)、缓冲液(批号554662)均购自德国西门子公司,并在有效期内使用;硬质塑料试管购自江苏晟康医疗用品有限公司(批号20190511);一次性使用真空采血管(普通试管)购自浏阳市三力医用科技发展有限公司(批号201810);枸橼酸钠(3.2%)真空采血管(涂膜凝血管)购自成都瑞奇医疗科技股份有限公司(批号20190637)。

1.3 方法

1.3.1 解冻时间选择 取出冷沉淀置于37℃水浴冰冻血浆解冻箱解冻槽内融解,观察每个设置时间点的融解和检测结果。

1.3.2 关键试剂保存温度选择 将Ⅷ因子活性测定试剂分成2等份,分别作为24℃室温放置试剂、冰冻后37℃复苏试剂,检测前先对仪器进行定标,结果需符合线性要求,质控结果在控后进行留样检测。

1.3.3 最佳保存温度和检测时间 取10份冷沉淀融解后分装放置于24℃室温、4℃、-25℃条件下贮存,并按照0、2、4、8、12、24 h检测时间进行检测,选择出最适保存温度和检测时间。

1.3.4 Ⅷ因子检测可报告范围(最大稀释度) 选取1份冷沉淀Ⅷ因子检测结果接近预期上限的高浓度标本用缓冲液进行稀释,分别按稀释度为原液1:1、1:2、1:3、1:4进行检测,将结果均值与理论值进行比较得出相关系数 R , R 在0.8~1.2为可报告范围。

1.3.5 高浓度Ⅷ因子标本的模拟制备 从一批已知Ⅷ因子检测合格的冷沉淀中,随机取1份37℃融解,

分装到2支普通试管,1份即时进行Ⅷ因子检测,1份在-25℃条件下冰冻24 h后,取出直立放置室温自然融解,用塑料吸管从上中下层缓慢吸取分装后备检。

1.4 统计学处理 采用SPSS23.0统计软件对数据进行处理和分析,呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 解冻时间检测结果比较 取20袋冷沉淀进行融解并进行Ⅷ因子水平检测,肉眼观察到冷沉淀随融解时间延长,融解效果越好,10 min开始所有冷沉淀完全融解。融解10 min Ⅷ因子水平为 (2.29 ± 0.78) IU/mL;融解30 min Ⅷ因子水平为 (2.05 ± 0.63) IU/mL;融解60 min Ⅷ因子水平为 (1.95 ± 0.57) IU/mL;融解120 min Ⅷ因子水平为 (1.81 ± 0.50) IU/mL;与融解10 min的结果比较,30、60、120 min差异均有统计学意义($t = 3.371, 4.011, 4.545, P = 0.0032, 0.0007, 0.0002$)。

2.2 最适材质试管选择 3种材质试管存放融解后冷沉淀10~30 min,检测Ⅷ因子水平。塑料试管Ⅷ因子水平为 (1.7970 ± 0.4020) IU/mL;普通试管Ⅷ因子水平为 (1.8805 ± 0.3764) IU/mL;涂膜凝血管Ⅷ因子水平为 (1.5270 ± 0.2757) IU/mL。塑料试管与普通试管比较差异无统计学意义($t = 1.274, P = 0.2179$),涂膜凝血管与普通试管、塑料试管比较差异均有统计学意义($t = -6.228, -7.268, P < 0.001$)。

2.3 关键试剂最佳保存温度选择 将Ⅷ因子活性测定试剂分为I组和II组,I组24℃室温保存试剂2 h,II组冰冻24 h后37℃复苏2 h,再进行Ⅷ因子水平检测,I组Ⅷ因子水平为 (2.01 ± 0.51) IU/mL、II组Ⅷ因子水平为 (2.14 ± 0.56) IU/mL,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.4 标本保存不同温度和时间的Ⅷ因子水平变化 冷沉淀融解后的标本储存在普通试管中,检测24 h内保存不同温度及时间的Ⅷ因子水平。-25℃保存条件,与0 h比较,2、4、8、12、24 h Ⅷ因子水平差异无统计学意义($P > 0.05$);4℃保存条件,与0 h比较,12、24 h Ⅷ因子水平降低($P < 0.05$);24℃保存条件下,与0 h比较,8、12、24 h Ⅷ因子水平降低($P < 0.05$)。见表1。

2.5 Ⅷ因子检测可报告范围(最大稀释度) 结果显示,最大稀释度为1:4,其中 R 值接近1最符合稀释要求(最大稀释度为1:2),见表2。

2.6 高浓度Ⅷ因子标本的模拟制备 Ⅷ因子水平立

即检测为 1.41 IU/mL,在冰冻融解后上、中、下层水平分别为 0.28、1.32、2.62 IU/mL。

表 1 标本保存不同温度和时间的Ⅷ因子水平变化($\bar{x} \pm s$, IU/mL)

保存温度 (°C)	冷沉淀融解后标本保存时间					
	0 h	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h
-25	1.73±0.48	1.66±0.62	1.68±0.49	1.51±0.51	1.64±0.51	1.66±0.45
<i>t</i>		-0.732	-0.466	-1.487	-0.751	-0.586
<i>P</i>		0.482 8	0.652 1	0.171 2	0.471 7	0.572 5
4	1.73±0.48	1.63±0.54	1.52±0.62	1.49±0.50	1.22±0.40	0.75±0.41
<i>t</i>		-1.575	-1.422	-2.257	-3.753	-7.218
<i>P</i>		0.149 6	0.188 7	0.050 4	0.004 5	0.000 1
24	1.73±0.48	1.72±0.48	1.50±0.58	1.31±0.42	1.15±0.33	1.03±0.30
<i>t</i>		-0.387	-1.585	-3.237	-4.181	-4.450
<i>P</i>		0.707 6	0.147 4	0.010 2	0.002 4	0.001 6

注:*t*与*P*值为与0 h比较的结果。

表 2 标本不同稀释度Ⅷ因子水平结果

项目	稀释倍数(倍)			
	1	2	3	4
实测值(IU/mL)	2.32	1.18	0.87	0.70
实测换算值(IU/mL)	2.32	2.36	2.61	2.80
R	0.98	1.00	1.11	1.19
结论	符合	符合	符合	符合

注:实测换算值以2倍稀释作为标准。

3 讨 论

冷沉淀是临床输血治疗的一种重要血液成分,主要用于预防和治疗出血性疾病,先天性或获得性凝血因子Ⅷ缺乏症,对凝血功能疾病起着非常重要的作用,还适用于烧伤、肿瘤、皮肤黏膜疾病、弥散性血管内凝血和手术创伤等^[5-6],在临床治疗中取得了明显的效果;血液质量是保障临床治疗效果的前提,因此,血站对成分血液质量抽检起到重要的保障作用。

有研究报道,使用冷沉淀凝血因子制备仪制备的冷沉淀中Ⅷ因子水平明显高于低温融解箱制备的^[4-7],目前,本站采用全自动冷沉淀制备仪制备冷沉淀,减少人为操作失误因素对质量的影响。冷沉淀制备技术提高了冷沉淀中Ⅷ因子检测的准确性,在保证融解效果的同时控制了解冻时间^[8-10]。本研究显示,冷沉淀置于37℃水浴解冻,随融解时间延长Ⅷ因子水平明显下降,差异有统计学意义($P < 0.05$),融解时间控制在10 min最佳,这与相关研究报道基本一致^[11]。

在检测仪器正常状态情况下,标本处理及检测试剂处理是影响检测结果的两大主要因素^[12],曾有研究表明采用促凝真空管,尤其是分离胶促凝真空管进行

急诊生化项目检测时,凝血时间短,无挂壁^[13]。本研究发现,留取融解的冷沉淀选择普通试管和塑料试管最佳,涂膜血凝管较差。理论上,涂膜血凝管可减少对蛋白质的吸附,应该较另外2种试管检测Ⅷ因子结果更优。但是,从本研究检测结果对比分析发现,普通试管与塑料试管Ⅷ因子水平较高,涂膜血凝管Ⅷ因子水平明显较低,说明选择冷沉淀标本留样试管前,应该充分进行试验,评估其对Ⅷ因子的影响,不能仅靠厂家的资料宣传。本研究中24℃室温放置试剂、冰冻后37℃复苏试剂,Ⅷ因子水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$),提示日常工作中Ⅷ因子活性测定试剂可于室温保存,如特殊原因不能当时完成检测的,可以立即将试剂分装冷冻保存,至少24 h内复苏后可立即使用。

在日常血液质量抽检工作中,标本保存温度和检测时间也应受到重视。我国对融解后冷沉淀的保存温度规定2~6℃储存24 h^[1],这是为了最大程度方便临床使用而不轻易报废成分血,但国外已在研究融解后的冷沉淀在冷藏和室温下保存35 d的止血特性^[14],提示今后可以开展进一步研究。本研究试验结果充分表明,保存时间和时间会影响Ⅷ因子检测结果,冷沉淀融解取样后,须尽快检测,4℃和24℃条件下,检测时间应该控制在8~12 h内,对于短时间无法检测的应该立即将冷沉淀样品冰冻保存24 h内复苏检测。

由于冷沉淀中Ⅷ因子较普通血标本高,需要掌握标本最佳稀释度。本研究结果表明最佳稀释比例为1:2。

综上所述,采供血机构对冷沉淀中Ⅷ因子抽检应该采用适当的检测方法,减少试验(下转第2025页)

agnosis of pre-eclampsia and endometriosis[J]. *Biomark Med*, 2018, 12(10):1161-1173.

[2] LEONE R M U, FERRERO S, MANGILI G, et al. A systematic review on endometriosis during pregnancy: diagnosis, misdiagnosis, complications and outcomes[J]. *Hum Reprod Update*, 2016, 22(1):70-103.

[3] ZHENG J, QU J, LU P, et al. Activin A stimulates aromatase via the ALK4-smad pathway in endometriosis[J]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016:5791510.

[4] 张群芳, 刘芸, 陈国勇, 等. 卵泡抑素表达水平与子宫内膜异位症患者体外受精、胚胎移植结局预后相关性分析[J]. *中华生殖与避孕杂志*, 2019, 39(5):365-369.

[5] CHO H Y, KYUNG M S, CYFRA 21-1 and placental growth factor as screening markers for endometriosis[J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25:1087-1092.

[6] KASAI K, KATO T, KADOTA Y, et al. Intraperitoneal administration of activin A promotes development of endometriotic lesions in a mouse model of endometriosis[J]. *J Med Invest*, 2019, 66(1/2):123-127.

[7] 赵丽琴, 郑伟平. 激活素 A 对子宫内膜异位来源间质细胞 IL-6、IL-8 以及 VEGF 因子表达及分泌的影响[J]. *中国卫生检验杂志*, 2015, 25(16):2730-2733.

[8] 徐小艳, 洛若愚, 邢辉. 激活素 A 和卵泡抑素在子宫内膜异位症中的诊断价值[J]. *中国生育健康杂志*, 2015, 26(2):119-122.

[9] 刘红梅, 高丽敏, 陈玲. CA125、尿皮质素、卵泡抑素与子宫内膜异位症相关性研究[J]. *中国地方病防治杂志*, 2017, 32(10):1164.

[10] KIESEL L, SOUROUNI M. Diagnosis of endometriosis in the 21st century[J]. *Climacteric*, 2019, 22(3):296-302.

[11] DORIEN F O, FLORES I, WAELKENS E, et al. Noninvasive diagnosis of endometriosis: review of current peripheral blood and endometrial biomarkers[J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2018, 50:72-83.

[12] 余晓茹, 李燕. 血管内皮生长因子及胎盘蛋白-14 在子宫内膜异位症诊断中的价值及临床意义[J]. *中国妇幼保健*, 2016, 31(15):3152-3154.

[13] 曾昭智, 张锦红, 陆少君. 胎盘生长因子抗体对大鼠子宫内膜异位症模型的治疗作用[J]. *广东药学院学报*, 2016, 32(2):228-230.

[14] 何春妮, 李雪梅. 胎盘生长因子抑制剂治疗子宫内膜异位症的实验研究[J]. *中国妇幼健康研究*, 2014, 25(3):386-387.

[15] ZUCCHINI C, DE SANCTIS P, FACCHINI C, et al. Performance of circulating placental growth factor as a screening marker for diagnosis of ovarian endometriosis: a pilot study[J]. *Int J Fertil Steril*, 2016, 9(4):483-489.

(收稿日期:2020-10-16 修回日期:2021-02-18)

(上接第 2021 页)

干扰因素, 提高冷沉淀检测的合格率, 避免因 VIII 因子抽检结果偏低而导致血液不必要的报废。

参考文献

[1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 血站技术操作规程(2019 版)[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019:44-46.

[2] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 全血及成分血质量要求(GB 18469-2012)[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012:12.

[3] 吴南, 张志安, 尤榕, 等. 国内 24 家血液中心全血分离制备成分血的现状研究[J]. *中国输血杂志*, 2020, 33(11):1132-1136.

[4] 梁佩贤, 刘运芝, 余晋林, 等. 冷沉淀凝血因子虹吸法制备工艺参数的优化与验证[J]. *检验医学与临床*, 2019, 16(15):2210-2213.

[5] BARTO N, JERROLD H L, HOMER T, et al. Cryoprecipitate transfusion in bleeding patients[J]. *CJEM*, 2020, 22(2):4-11.

[6] DEBBIE H, ERICK C, DON C, et al. Targeted cryoprecipitate transfusion in severe traumatic haemorrhage[J]. *Injury*, 2020, 51(9):1949-1955.

[7] 肖乐宇. 冷沉淀凝血因子制备仪制备冷沉淀的质量评价

[J]. *中国输血杂志*, 2016, 29(1):96-97.

[8] 陈菊芬, 沈磁石, 叶有玩, 等. 不同时间制备的血浆及冷沉淀的质量比较[J]. *中国输血杂志*, 2013, 26(5):454-456.

[9] 陈盛旺, 罗庆宗, 古全英, 等. 采后不同时间分离的血浆所制备的冷沉淀质量分析[J]. *中国输血杂志*, 2015, 28(6):708-709.

[10] 李建华, 王倩, 肖鲲. 全自动血液分离机制备产品的质量分析[J]. *临床输血与检验*, 2015, 17(6):541-543.

[11] 钟万芬, 唐小勇, 孙凯, 等. 两种融浆机融解冷沉淀及融解时间的长短对冷沉淀中凝血因子生物活性的影响[J]. *检验医学与临床*, 2017, 14(18):2739-2741.

[12] 陈同庆, 李振兴. Sysmex CA7000 血凝仪试剂仓试剂放置时间对血凝四项检测结果的影响[J]. *中国实验血液学杂志*, 2014, 22(6):1633-1637.

[13] 姚碧婉. 几种血标本样品管在急诊生化检验的评价[J]. *当代医学*, 2012, 18(3):105-106.

[14] FENDERSON J L, MELEDEO M A, RENDO M J, et al. Hemostatic characteristics of thawed, pooled cryoprecipitate stored for 35 days at refrigerated and room temperatures[J]. *Transfusion*, 2019, 59(S2):1560-1567.

(收稿日期:2021-01-11 修回日期:2021-04-18)