

冻存时间对ALT干粉质控品检测的影响分析

蒋义^{1,2}, 谢毓滨², 邹义洲^{1*}

¹中南大学基础医学院免疫学系, 湖南 长沙

²长沙血液中心输血研究所, 湖南 长沙

收稿日期: 2023年2月24日; 录用日期: 2023年4月19日; 发布日期: 2023年4月27日

摘要

目的: 分析冻存时间对转氨酶干粉质控品检测结果的影响, 了解干粉质控品复溶后的均一与稳定性, 从而优化血站ALT检测中室内质控品使用方案。方法: 将转氨酶干粉质控品中值及高值复溶后分装, 各浓度取6支共重复检测20次, 其他-20℃冰箱保存。自第2天起至第38天, 每天取出2支置室温, 由同一人重复操作共检测4次, 计算均值(X)、标准差(SD)和变异常数(CV)。将第一天的值作为实验对照组, 第2~15天为第二组, 第16~29天为第三组, 第30~38天为第四组。采用多重比较Dunnnett-t检验比较后三组与第一组检测结果有无差异性。连续观察152天, 制作结果折线图观察有无趋势变化。结果: 每天重复检测的CV < 3%, 一天内精密度高, 均一性较好; 中值及高值冷冻条件下复溶的均值与对照组比较, 均无统计学差异(p > 0.05); ALT质控品152天检测趋势显示, CV小于允许总误差值的1/3 (6.67%), 折线图显示无明显趋势变化。结论: -20℃保存的朗道ALT质控品分装37支较为合理, 能最大限度发挥其使用效能。

关键词

质控品, ALT, 冻存时间, 稳定性

The Effect of Freezing Time on the Detection of ALT Dry Powder Quality Control Products

Yi Jiang^{1,2}, Yubin Xie², Yizhou Zou^{1*}

¹Department of Immunology, School of Basic Medicine Science, Central South University, Changsha Hunan

²Institute of Blood Transfusion, Changsha Blood Center, Changsha Hunan

Received: Feb. 24th, 2023; accepted: Apr. 19th, 2023; published: Apr. 27th, 2023

Abstract

Objective: The influence of frozen time on the test results of ALT quality control products, was ana-

*通讯作者。

文章引用: 蒋义, 谢毓滨, 邹义洲. 冻存时间对 ALT 干粉质控品检测的影响分析[J]. 生物医学, 2023, 13(2): 287-292.

DOI: 10.12677/hjbm.2023.132033

lyzed to understand the uniformity and stability, so as to optimize the use scheme of indoor quality control in ALT test of blood station. **Methods:** The medium value and high value of ALT dry powder were dissolved in water and then divided into different packs. 6 packs of each concentration were taken for 20 times repeated testing, and the others were stored at -20°C . From the 2nd day to the 38th day, 2 packs were taken out at room temperature every day. The operation was repeated by the same person for a total of 4 times, and the mean value (X), standard deviation (SD) and variation constant (CV) were calculated. The results of the first day were used as the control group, the second group on days 2~15, the third group on days 16~29, and the fourth group on days 30~38. The multiple comparison Dunnett-T test was used to compare the results of the last three groups and the first group. After 152 days of continuous observation, a line chart was made to observe whether there was a trend change. **Results:** CV of daily repeated detection is less than 3%, which had high precision and good uniformity within days. Compared with the control group, under the freezing condition of the medium and high value both showed no statistical difference ($p > 0.05$). The test trend of ALT quality control products in 152 days showed CV was less than 1/3 (6.67%) of the total allowable error value, and the line chart had no obvious trend change. **Conclusion:** It is reasonable to pack 37 pieces of Landau ALT quality control products stored at -20°C , which can maximize the use efficiency of quality control serum.

Keywords

Quality Control Products, ALT, Frozen Time, Stability

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

为促进血站规范化管理,提升血液质量安全水平,国家卫生健康委制定了《血站技术操作规程(2019版)》,在规程中指出血液采集后必须进行丙氨酸氨基转移酶(Alanine aminotransferase, ALT)的检测[1]。目前大部分血站实验室 ALT 室内质控采用生化复合干粉质控品[2]。该类质控品稳定性好,能监测约 60 余种生化指标,复溶容量大(5 mL 或者 10 mL),适用于开展生化项目较多的医院。为保证总酸性磷酸酶及总前列腺特异性抗原的稳定性,厂商建议 -20°C 冷冻分装使用期限为 28 天[3]。血站 ALT 使用全自动生化分析仪检测,每次检测用量不足 50 μL 。如若每天使用一次质控品,每支复溶质控品分装使用天数将超过厂商建议的 28 天。国内现在并没有针对该种质控品超过 28 天 ALT 稳定性的研究,国外此类研究的结果尚存争议[4] [5]。为避免质控品的浪费,规范实验室操作,亟需了解冻存时间对 ALT 干粉质控品检测的影响。

基于此,本文通过对复溶后生化干粉质控品在不同冻存时间的测定,分析其对结果的影响,以便合理使用质控,保证室内质控品真正用于监测和评估实验室检测数据及结果准确性。

2. 材料与方法

2.1. 干粉质控品

英国朗道公司生产的定值人基质多项质控血清(水平 2: HN1530, 批号 1286UE; 水平 3: HE1532, 批号 983UE),干粉按要求避光保存于 -4°C 。

2.2. 仪器与试剂

雅培全自动生化分析仪 C8000,迈瑞试剂(批号: 140119007),使用前经监测设备各项参数均在要求

范围内, 试剂均在有效期内使用。

2.3. 方法

2.3.1. 质控液准备

从冰箱取出两不同浓度干粉质控品各 2 套, 按说明书操作, 每瓶加入去离子水 5 mL 颠倒混匀十次, 避光待溶解, 静置 30 分钟后混匀, 再分别分装并标记于 EP 管(分装量 120 μ L), 避光保存于 -20°C 冰箱。

2.3.2. 分组

按天进行分组, 第 1 天为第一组即实验对照组(冷冻 0 天), 第 2~15 天为第二组, 第 16~29 天为第三组, 第 30~38 天为第四组。

2.3.3. 冻存时间试验

将质控品第 1 天(记录冻存 0 天)取出 6 组, 重复检测共 20 次。从第 2 天起每天随机取出两组, 室温复融 30 min, 混匀后检测 4 次, 连续 37 天, 记录每次检测结果。连续监测 4 批次共 152 天, 记录每次检测结果。

2.3.4. 统计学方法

采用 SPSS17.0 统计学软件对实验数据进行处理, 计算各组均值, 标准差, 变异系数, 采用完全随机设计资料的方差分析中的多重比较 Dunnett-t 检验, 比较测定结果各组与对照组之间有无差异, $p < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。利用 Excel 2013 作图对实验数据进行数据趋势分析。

3. 结果

3.1. 冻存保存下一天内检测的均一性

每种浓度质控品同一天的冻存复溶的两套四次检测重复性 CV 均小于 4%, 采用拉丁方设计资料的方差分析 F 中值 = 2.04 > 0.05; F 高值 = 1.85 > 0.05, 还不能认为每天四次检测的 ALT 中、高值检测结果有差别。一天内稳定性好, 小于质控数据要求批内不精密度 $\text{CV} \leq 5\%$ [1]。表 1 为部分重复检测数据(选取分组的每一组最后一天)。

Table 1. Test homogeneity of ALT quality control products stored at -20°C for different days

表 1. -20°C 保存不同天数内 ALT 质控品检测均一性

冻存天数	ALT 中值				平均值	CV	ALT 高值				平均值	CV
	重复次数下检测值						重复次数下检测值					
	1	2	3	4			1	2	3	4		
14	40.2	40.6	40.2	40.5	40.38	0.44%	156.8	156.9	157.1	158.6	158.1	0.19%
28	39.8	39.7	39.7	39.3	39.63	0.48%	156.3	156.1	155.8	155.6	155.95	0.17%
37	39.0	38.7	38.5	38.2	38.6	0.76%	154.8	154.5	154.6	153.6	154.38	0.29%

3.2. 不同冻存时间下检测结果的均值比较

Table 2. Comparison of mean value ($\bar{x} \pm s$) of test results under different freezing time

表 2. 不同冻存时间下检测结果的均值($\bar{x} \pm s$)比较

检测浓度	冻存 0 天	冻存 1~14 天	冻存 15~28 天	冻存 29~37 天	F	p
ALT 中值	41.1 \pm 0.14	39.09 \pm 2.70	38.76 \pm 1.78	39.00 \pm 2.15	0.76	0.52
ALT 高值	159.54 \pm 0.23	156.57 \pm 2.74	156.55 \pm 1.81	156.75 \pm 1.68	1.25	0.30

如上表所述,经统计学方差分析中的多重比较 Dunnett-t 检验,中值浓度质控 $F = 0.76, p = 0.52 > 0.05$; 高值浓度质控 $F = 1.25, p = 0.30 > 0.05$, 中、高值的四组检测结果的总体均数间差异无统计学意义,即冷冻 37 天对 ALT 中, 高值 ALT 活性无影响。

3.3. 不同冻存时间下检测结果的 CV 比较

ALT 中值及高值在不同冻存时间下, 组内 CV 均小于质控数据要求批内不精密度 $CV \leq 5\%$ 。

Table 3. CV comparison of test results under different freezing time

表 3. 不同冻存时间下检测结果的 CV 比较

检测浓度	冻存 0 天	冻存 1~14 天	冻存 15~28 天	冻存 29~37 天
ALT 中值	0.34	4.91	4.60	4.51
ALT 高值	0.17	1.72	1.13	1.05

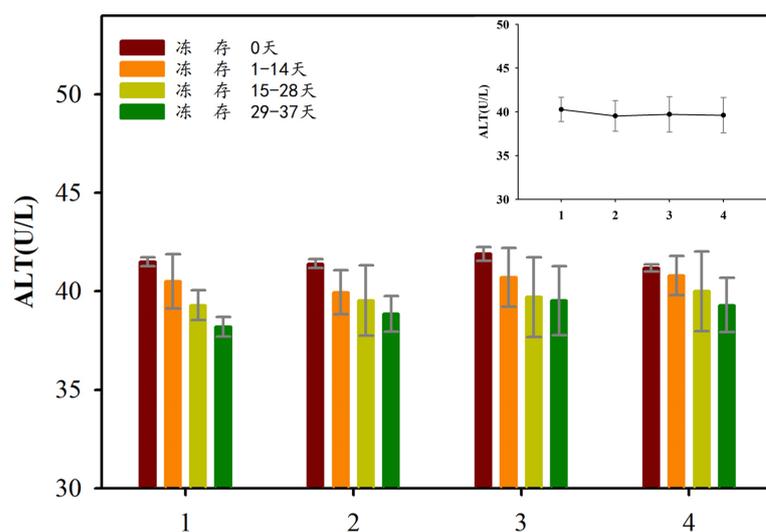


Figure 1. The test trend of ALT median-value quality control products in 152 days

图 1. ALT 中值质控品 152 天监测趋势图

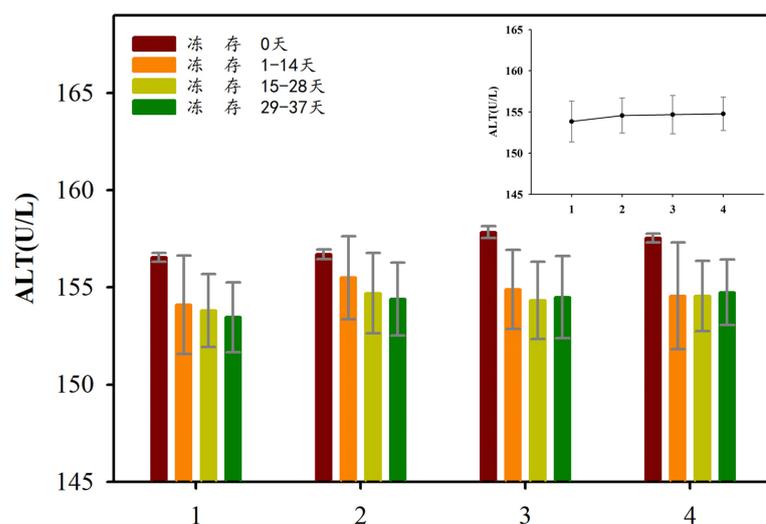


Figure 2. The test trend of ALT high-value quality control products in 152 days

图 2. ALT 高值质控品 152 天监测趋势图

3.4. ALT 质控品检测趋势

ALT 中、高值质控血清呈正态分布, 中值正态性检验 $p = 0.77 > 0.05$, 高值正态性检验 $p = 0.45 > 0.05$ 均服从正态分布; 使用折线图观察检测结果: 在 4 组质控累计 152 天内 -20°C 保存检测结果仍保持较好稳定性而无趋势变化, 见图 1 和图 2。

4. 讨论

随着血液检测技术、检测方法与检测策略的不断发展[4], 血液质量与安全得到持续提升, 从个别血站建立可供参考的单个实验室指标到借鉴《临床实验室质量指标》中 12 个参数, 再至含 38 个质量监测指标的血站系统的团标《血站血液检测实验室质量监测指标》[5]发布, 可见卫生健康委对血站实验室能力建设要求也越来越高[6] [7] [8]。血站实验室能力建设是影响检测结果准确性的关键因素, 实验室血液检测结果能否真实地反映血液的质量与安全性, 是评估实验室质量体系是否有效运行的核心指标[9]。室内质控是全面质量管理体系中的重要环节, 也是室间质评的基础, 同时也反映了实验室建设的水平及能力。质控品是实施室内质控的重要物质保障, 室内质控物应选择质量、来源稳定, 无基质效应的质控品[1] [10]。研究表明 ALT 质控血清的稳定性与放置时间, 贮存温度及保存环境等诸多因素相关[11] [12] [13]。一般来说, 放置时间越长, 贮存温度越高, 非避光储存等将导致酶的活性下降速度越快。

在批定值项目中必须进行均匀性研究, 以证明一批瓶(单元)是足够均匀的[14] [15]。本研究中每一个分装样本即一个最小单元, 每次取样两个最小单元并重复检测 2 次, 连续监测了冻存 37 天的两浓度质控品, 而第一天 20 个重复数据亦可以作为批次的批内精密度检测结果。本文表 1 选取了部分监测结果, 在同一瓶中每次检测 ALT 检测结果无差别, 由此可以了解干粉质控品制成的质控液冻存复溶下, 瓶内差异较小, 瓶内均匀性好。

“稳定的”材料也可能会有一个或多个特性值显示不稳定[16] [17]。确定物质在制备后的不稳定性或材料的稳定性即稳定性检验的目的。它包括在规定贮存条件下的稳定性(长期稳定性)和在规定运输条件下的稳定性。本文选择稳定性影响因素之一的冷冻保存时间作为研究对象, 观察了长期稳定性中不同冷冻保存时间对稳定性的影响。结果 2 中不同冻存时间下检测结果的均值比较表明: 同一批次下冷冻 37 天的三组与不冻存相比, 对 ALT 中值和高值均无影响, 这与 Kachhawa K [18]等在印度观察 30 天 ALT 稳定性结果一致, 而与 Santos D R D [19]等研究 ALT 在 14 天开始酶的活性都显著下降有差异。

评估稳定性研究数据的重要一步是检查数据中是否有任何可观察到的趋势[14]。在每个时间点, 应使用一瓶以上材料的长期稳定性, 本文观察了 152 天四组次(每组次 38 天)的总体长期趋势。实验结果 3 及 4 显示, 连续 4 组次总体 RCV%均较理想, 变异系数均在血站技术操作规程(2019)推荐值范围内[1], 即 ALT 检测方法的批内不精密度 CV 应小于等于 5%, 批间不精密度 CV 应小于等于 6.7%。但进一步分析其检测结果发现, 虽然各个冻存时间下的质控品 RCV%均未超过推荐值, 但均低于说明书赋值的中值 41 U/L, 高值 157 U/L, 其可能原因是干粉质控品在使用的过程中不可避免的因素如室温、仪器、复溶、分装等其他步骤的误差, 会使冻干质控品复溶的检测结果变异系数增大[16] [17]。

综上所述, 朗道干粉质控品中的 ALT 活性, 冷冻 -20°C 保存情况下至少可以稳定 37 天, 远超出说明书规定的复合使用期限 28 天。因此可以将其多样分装, 减少质控血清更换频率, 节约资源。

基金项目

长沙市卫计委市级重点学科建设基金资助项目(swjw201817)。

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: 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 2019.
- [2] 徐超. 重组人转氨酶标准物质及人巨细胞病毒 IgG 抗体国家参考品的研制[D]: [硕士学位论文]. 北京: 中国食品药品检定研究院, 2013.
- [3] 李全双, 许靖, 吴燕, 等. 朗道血清质控品作为 ELISA 法检测血清可溶性 ST2 室内质控物的可行性探讨[J]. 现代检验医学杂志, 2022, 37(5): 190-193.
- [4] 常乐, 闫颖, 姬慧敏, 王露楠. 我国血站血液检测实验室检测能力基本情况分析[J]. 中国输血杂志, 2022, 35(7): 731-736.
- [5] 中国输血协会. T/CSBT 004-2019 血站血液检测实验室质量监测指标[S]. 北京: 中国输血协会, 2019.
- [6] 刁丽波, 梁艳娇. 血站酶免检测实验室质量监测指标分析方法探讨[J]. 大理大学学报, 2021, 6(2): 82-85.
- [7] 王露楠. 血站实验室能力建设[J]. 中国输血杂志, 2018, 31(2): 99-100.
- [8] 蔡茵, 郑岚, 翁逸峰, 等. 血液筛查实验室检测前哨兵指标的建立与应用[J]. 中国输血杂志, 2021, 34(11): 1269-1273.
- [9] 沈荣静. 实验室能力验证影响最终结果的几种因素[J]. 中国标准化, 2018(4): 216-221.
- [10] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL005: 2018 实验室内部研制质量控制样品的指南[S]. 北京: 中国合格评定国家认可委员会, 2018.
- [11] 刘瑞来, 张晨, 林炜炜, 等. 不同生化血清非定值质控品性能的应用评估[J]. 中华检验医学杂志, 2019, 42(9): 787-792.
- [12] Chua, C., Tiffigiu, E., Boroujeni, A.M., et al. (2018) Stability of Values for the Activities of Critical Enzymes Assayed in Serum Frozen for Prolonged Time Periods. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, **48**, 618-626.
- [13] 黄敏, 张立波, 庞蓉蓉, 等. ELISA 室内质控品在冷藏条件下的时间稳定性分析[J]. 临床血液学杂志(输血与检验), 2019, 32(6): 934-939.
- [14] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL003: 2018 能力验证样品均匀性和稳定性评价指南[S]. 北京: 中国合格评定国家认可委员会, 2018.
- [15] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL017: 2018 标准物质/标准样品定值的一般原则和统计方法[S]. 北京: 中国合格评定国家认可委员会, 2018.
- [16] 彭南海, 李培, 倪元红. 不同存放方式对肠外营养液稳定性影响的研究[J]. 肠外与肠内营养, 2015, 22(5): 295-299.
- [17] 王全慧. 血站实验室全自动生化分析仪 ALT 项目的检测性能分析[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(6): 820-823.
- [18] Kachhawa, K., Kachhawa, P., Varma, M., et al. (2017) Study of the Stability of Various Biochemical Analytes in Samples Stored at Different Predefined Storage Conditions at an Accredited Laboratory of India. *Journal of Laboratory Physicians*, **9**, 11-15. <https://doi.org/10.4103/0974-2727.187928>
- [19] dos Santos, D.R., Souza, R.O., Dias, L.B., et al. (2018) The Effects of Storage Time and Temperature on the Stability of Salivary Phosphatases, Transaminases and Dehydrogenase. *Archives of Oral Biology*, **85**, 160-165. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.10.016>