



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113234792 A

(43) 申请公布日 2021.08.10

(21) 申请号 202110367102.7

(22) 申请日 2021.04.06

(71) 申请人 北京九强生物技术股份有限公司
地址 100083 北京市海淀区花园东路15号
旷怡大厦5层

(72) 发明人 王晓建 贾瑛娜 胡雅琦 周乔
付红伟 刘希

(74) 专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司 11314
代理人 程伟 程云

(51) Int.Cl.
C12Q 1/56 (2006.01)

权利要求书2页 说明书11页

(54) 发明名称

一种用于凝血检测的质控组合物

(57) 摘要

本申请公开了一种用于凝血检测的质控组合物。具体而言,公开了一种组合物,其包含血浆基质、保护剂。本申请还涉及这种组合物的制备方法。根据本申请的质控组合物具有较好的稳定性和均匀性,能够满足临床凝血检测的质量控制需求。

1. 一种质控组合物,其包含:
血浆基质;
保护剂 20至150g/L;
以及,所述质控组合物不包含以下的任一项或其组合:叠氮钠、苯甲酸钠、Tween-80、柠檬酸钠、肝素;
所述保护剂包含:
15g/L至100g/L蔗糖、
3g/L至30g/L BSA、
2g/L至20g/L甘露醇。
2. 根据权利要求1所述的质控组合物,其中所述保护剂选自以下的任一项或组合:
蔗糖50g/L、BSA 20g/L和甘露醇15g/L;
蔗糖30g/L、BSA 10g/L和甘露醇20g/L;或
蔗糖15g/L、BSA 30g/L和甘露醇10g/L。
3. 根据权利要求1或2所述的质控组合物,其中:
所述血浆基质源自人;并且
所述血浆基质是HIV1抗体阴性、HIV2抗体阴性、肝炎B表面抗原阴性、肝炎C病毒抗体阴性、梅毒螺旋体阴性。
4. 根据权利要求1至3中任一项所述的质控组合物,所述质控组合物是冻干粉。
5. 根据权利要求4所述的质控组合物,所述冻干粉的含水量不超过按质量计8%;优选不超过5%。
6. 一种质控组合物的制备方法,其包括步骤:
 - 1) 提供人血浆基质;
 - 2) 向所述人血浆基质添加保护剂,所述保护剂包含:
15g/L至100g/L蔗糖、
3g/L至30g/L BSA、
2g/L至20g/L甘露醇;
 - 3) 向步骤2) 所得混合物中添加或去除纤维蛋白原和/或凝血因子;
 - 4) 获得质控组合物;使所述质控组合物的以下参数符合以下i) 至iii) 中的任一组:
 - i)

凝血酶原时间	8 至 17	秒
活化部分凝血活酶时间	20 至 52	秒
纤维蛋白原	1.8 至 4.0	g/L
任选地, 凝血酶时间	9 至 24	秒;
 - 或, ii)

凝血酶原时间	17 至 52	秒
活化部分凝血活酶时间	40 至 80	秒
纤维蛋白原	1.0 至 2.5	g/L
任选地, 凝血酶时间	20 至 35	秒;

或, iii)

凝血酶原时间	46 至 85	秒
活化部分凝血活酶时间	60 至 110	秒
任选地, 纤维蛋白原	0.5 至 1.5	g/L
任选地, 凝血酶时间	30 至 50	秒;

其中:

优选地, 所述保护剂选自以下的任一项或组合:

蔗糖50g/L、BSA 20g/L和甘露醇15g/L;

蔗糖30g/L、BSA 10g/L和甘露醇20g/L; 或

蔗糖15g/L、BSA 30g/L和甘露醇10g/L;

所述质控组合物不包含以下的任一项或组合: 叠氮钠、苯甲酸钠、Tween-80、柠檬酸钠、肝素;

所述血浆基质是HIV1抗体阴性、HIV2抗体阴性、肝炎B表面抗原阴性、肝炎C病毒抗体阴性、梅毒螺旋体阴性;

优选地, 步骤3) 中所述去除是通过吸附剂氢氧化铝进行的;

更优选地, 向步骤2) 获得的人血浆中添加0.10g/mL至0.35g/mL氢氧化铝, 以去除纤维蛋白原和/或凝血因子; 去除所述吸附剂; 然后添加适量纤维蛋白原和/或凝血因子。

7. 根据权利要求6所述的方法, 还包括步骤:

冷冻干燥所述质控组合物, 获得冻干的质控组合物;

优选地, 所述冻干的质控组合物的含水量不超过按质量计8%; 更优选不超过5%。

8. 一种质控组合物, 其是通过权利要求6或7的所述方法制得。

9. 一种试剂盒, 其包含权利要求1至5和8中任一项所述的质控组合物。

10. 权利要求1至5和8中任一项所述的质控组合物在制备试剂盒中的用途; 优选地, 所述质控组合物是用于凝血检测的质控组合物。

一种用于凝血检测的质控组合物

技术领域

[0001] 本申请涉及临床凝血检验的质量控制领域。更具体地,本申请涉及一种可同时用于PT、APTT、TT、FIB四项凝血检测的质量控制物质的制备方法、以及所得的质量控制物质。

背景技术

[0002] 血液凝固是一个非常复杂的生理过程,需要人体各种凝血因子的参与,这些凝血因子按照一定顺序相继激活形成凝血酶,最终使纤维蛋白原转变为纤维蛋白。经典的瀑布学说将血液凝固划分为外源性凝血途径、内源性凝血途径和共同凝血途径,其对应的临床监测指标分别为凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)和纤维蛋白原(FIB)。这四个参数的检测涉及临床几乎所有科室,是判断机体凝血与止血系统病理变化的重要指标,是临床上最常用的、最基本的凝血系统筛查实验,也是临床溶栓、抗凝治疗及手术前的必要检查参数。

[0003] 实验室检查是疾病预防、诊断和治疗的重要依据,因此检测结果的准确可靠非常关键,做好室内质量控制与室间质量评价是检测结果准确可靠的有效保障,而这两项均离不开质量控制物质,他不仅可用于评价或验证测量的精密度、测量的准确度、由于试剂或分析仪器的变化检测系统可能产生的分析偏差,而且还可用于能力验证。好的质控物质通常具有以下方面:

[0004] (1)良好的稳定性

[0005] 质控物质的稳定性分两方面,一个是长期稳定性(决定了质控物质每个批次的效期),另一个是复溶稳定性(复溶稳定性好可以保证每瓶质控物质最大程度被应用)。

[0006] (2)均匀性好

[0007] 实验室做质量控制的目的是反映检测系统的状态,日常检测的实验室变异则包含了检测系统的变异和质控物质瓶间的变异。因此只有让质控物质瓶间均匀性好,才能真正体现检测系统的真实情况。各个实验室在使用冷冻干燥的质控物质时,应重视复溶前、复溶中和复溶后的每一个环节,以确保质控物质在使用中的可靠性。

[0008] (3)质控物质的浓度水平

[0009] 医学决定水平具有重要的临床意义,因此实验室的检测系统在医学决定水平值附近能否检测准确至关重要。通常,质控物质包括高值和低值处浓度的质控物质。

[0010] (4)复合性

[0011] 为了精简实验室质控物质种类并减少质控物质的储存成本,将多个检测项目合并。同时,复合质控物质也有助于提升工作效率。复合质控物质由于成分复杂,要求各组分之间不互相干扰(林建军等人,多项目特种蛋白复合冻干质控品的稳定性分析,生物医学工程学进展,2012年第33卷(4):223-225)。

[0012] 依据质量控制要求,所使用的质控物质其成分及基质效应与被测样本的成分及基质越接近越理想。最理想的是直接使用被测样本的同类样本。然而,人血清/血浆不易保存、运输,难以满足质控物质的稳定性需求。

[0013] CN107467013A公开了一种可以长期保存的质控品通用血浆基质的制备方法,此处的通用血浆基质包括但不限于可用于制备凝血质控品、抗凝药物质控品、抗凝血酶质控品的血浆。CN107467013A涉及通用血浆的冻干保护剂和冻干工艺;所述的冻干保护剂由多元醇类、氨基酸类 and 无机盐盐类按照一定比例混合而成。

[0014] CN103163307A涉及临床凝血检验项目质量控制领域,具体提供了一种用动物血浆制备可同时用于PT、APTT、FIB凝血参数检验的质控品的方法。CN103163307A用动物血浆以适当比例混合,添加或去除纤维蛋白原,添加适量含有稳定剂(三羟甲基氨基甲烷缓冲液10-30mM/L、叠氮钠0.5-2g/L、蔗糖10-30g/L、抑肽酶10000-100000KIU/L,盐酸调节pH值7.0-7.9)的血浆缓冲液,使混合血浆PT、APTT、FIB检测结果均在正常人凝血指标内,进行冷冻干燥,即得。

[0015] CN110346582A提供一种凝血复合质控品的制备方法,包括以下步骤:吸附;向动物血浆中加入吸附剂,得到第一混合血浆;吸附完成后,对所述第一混合血浆进行分离,得到第一血浆和吸附有凝血因子的第一吸附剂,使所述第一血浆的ATPP值和PT值均大于100s;解吸附:将所述第一吸附剂与所述动物血浆混合,得到第二混合血浆;解吸附完成后,对所述第二混合血浆进行分离,得到第三血浆和第二吸附剂,使所述第三血浆的ATPP和PT值均在正常人凝血指标内;冷冻干燥:将所述第三血浆与基础液混合,冷冻干燥,得到第二质控品。该方法通过吸附剂吸附与解吸附的方式调整动物血浆中凝血因子的浓度,进而得到ATPP和PT值均在正常人凝血指标内的、稳定性良好的凝血复合质控品。CN110346582A提供的质控品包含选自蔗糖、海藻糖、甘露醇、葡萄糖单糖、多糖中的一种或几种的保护剂。

[0016] CN110470849A公开了一种用于凝血检测的异常值质控品及其制备方法。该异常值质控品包括正常血浆、稳定剂溶液和香草酸,正常血浆与稳定剂溶液的体积比为5-8:3-6,香草酸的终质量浓度为0.5-1.5%。该异常值质控品的制备方法为:正常血浆的制备、血浆混合物的制备和用于凝血检测的异常值质控品的制备。CN110470849A的质控品包含浓度为35mM的羟乙基哌嗪乙磺酸溶液或咪唑溶液作为稳定剂溶液。

[0017] 技术人员不难注意到,鉴于血清/血浆基质本身的理化特点,上述现有技术中均引入了种类繁多的稳定和保护性成分。在质控物质的生产过程中,引入的成分越多,成本越高、操作更复杂和基质效应可能越大。此外,实验室做质量控制的目的之一是为了反映检测系统的状态,实验室变异系数(CV)包含了检测系统的CV和质控物质CV(瓶间、瓶内、批间、批内)。可见,引入的成分越多,人为操作步骤越多,则越容易增加质控物质的基质效应。这对于实验室的质量控制是不利的。然而,减少引入的稳定和防腐成分,又会降低质控物质的稳定性。

[0018] 鉴于此,需要找到一个平衡点,使得既能提高质控物质均匀性,又能达到满意的稳定性要求。为此,本领域的技术人员仍然需要获得一种适合用作质控物质的组合物。

发明内容

[0019] 根据一些实施方案,提供了一种质控组合物,其包含:

[0020] 血浆基质;

[0021] 保护剂 20至150g/L;

[0022] 以及,所述质控组合物不包含叠氮钠、不包含苯甲酸钠、不包含Tween-80、不包含

柠檬酸钠、不包含肝素。

[0023] 在一些实施方案中,所述保护剂选自以下:蔗糖、海藻糖、甘氨酸、精氨酸、BSA、HEPES、甘露醇、或其组合。

[0024] 在一些实施方案中,所述保护剂选自以下任一项或其组合:

[0025] 15g/L至100g/L 蔗糖、

[0026] 3g/L至30g/L BSA、

[0027] 2g/L至20g/L 甘露醇。

[0028] 在一些实施方案中,所述保护剂选自以下任一项或其组合:

[0029] 蔗糖50g/L、BSA 20g/L和甘露醇15g/L;

[0030] 蔗糖30g/L、BSA 10g/L和甘露醇20g/L;或

[0031] 蔗糖15g/L、BSA 30g/L和甘露醇10g/L。

[0032] 在一些实施方案中,质控组合物中的血浆基质源自人。

[0033] 在一些实施方案中,血浆基质是HIV1抗体阴性、HIV2抗体阴性、肝炎B表面抗原阴性、肝炎C病毒抗体阴性、梅毒螺旋体阴性。

[0034] 在一些实施方案中,所述质控组合物是冻干粉。

[0035] 在一些实施方案中,所述冻干粉的含水量不超过8%(如,按质量计8、7、6、5、4、3、2、1%);优选不超过5%。

[0036] 根据一些实施方案,提供了一种质控组合物的制备方法,其包括步骤:

[0037] 1) 提供人血浆;

[0038] 2) 向所述人血浆添加保护剂;

[0039] 3) 任选地,向步骤2) 获得的人血浆中添加或去除纤维蛋白原和/或凝血因子,

[0040] 4) 调整所述人血浆的浓度,使得凝血酶原时间、活化部分凝血活酶时间、纤维蛋白原、凝血酶时间,分别落入以下范围:

[0041] i)

	凝血酶原时间	8 至 17	秒
[0042]	活化部分凝血活酶时间	20 至 52	秒
	纤维蛋白原	1.8 至 4.0	g/L
	任选地, 凝血酶时间	9 至 24	秒

[0043] 或ii)

	凝血酶原时间	17 至 52	秒
[0044]	活化部分凝血活酶时间	40 至 80	秒
	纤维蛋白原	1.0 至 2.5	g/L
	任选地, 凝血酶时间	20 至 35	秒

[0045] 或iii)

	凝血酶原时间	46 至 85	秒
[0046]	活化部分凝血活酶时间	60 至 110	秒
	任选地, 纤维蛋白原	0.5 至 1.5	g/L
	任选地, 凝血酶时间	30 至 50	秒;

[0047] 4) 冷冻干燥,获得所述质控组合物。

[0048] 在一些实施方案中,步骤3)中所述的去除是通过吸附剂进行的,优选氢氧化铝;更优选地,向步骤2)获得的人血浆中添加0.10g/mL至0.35g/mL氢氧化铝,例如但不限于0.1、0.11、0.12、0.13、0.14、0.15、0.16、0.17、0.18、0.19、0.2、0.21、0.22、0.23、0.24、0.25、0.26、0.27、0.28、0.29、0.3、0.31、0.32、0.33、0.34、或0.35g/mL氢氧化铝。

[0049] 在一些实施方案中,任选地还包括去除吸附剂的步骤,然后添加适量的纤维蛋白原和/或凝血因子,所述“适量”是指使得凝血酶原时间、活化部分凝血活酶时间、纤维蛋白原、凝血酶时间各自落入预期范围(即i、ii或iii所限定范围)的程度。

[0050] 在一些实施方案中,所述保护剂选自以下:蔗糖、海藻糖、甘氨酸、精氨酸、BSA、HEPES、甘露醇、或其组合;优选地,所述保护剂选自以下任一项或其组合:

[0051] 15g/L至100g/L 蔗糖、

[0052] 3g/L至30g/L BSA、

[0053] 2g/L至20g/L 甘露醇。

[0054] 在一些实施方案中,所述保护剂选自以下任一项或其组合:

[0055] 蔗糖50g/L、BSA 20g/L和甘露醇15g/L;

[0056] 蔗糖30g/L、BSA 10g/L和甘露醇20g/L;或

[0057] 蔗糖15g/L、BSA 30g/L和甘露醇10g/L。

[0058] 在一些实施方案中,所述质控组合物不包含叠氮钠、不包含苯甲酸钠、不包含Tween-80、不包含柠檬酸钠、不包含肝素。

[0059] 根据一些实施方案,提供了一种试剂盒,其包含前述质控组合物。

[0060] 根据一些实施方案,提供了质控组合物在制备试剂盒中的用途。

[0061] 在一些实施方案中,所述质控组合物是凝血检测的质控组合物。

[0062] 在一些实施方案中,质控组合物适用于全自动、半自动凝血分析仪,包括但不限于适用德国美创TECO Coatron 1800、3000、5000系列全自动血凝仪,九强MDC3500、MDC7500系列全自动血凝仪等各种现有或未来的生化分析仪。

具体实施方式

[0063] 测定方法可以参考行业标准YY/T 1652-2019《体外诊断试剂用质控物通用技术要求》。

[0064] 实施例

[0065] 实施例1.不同类型的保护剂对稳定性的影响

[0066] 1.向基质血浆中加入一定浓度的叠氮钠或苯甲酸钠。测试所得质控组合物在不同温度时的稳定性。

[0067] 表1.在不同温度时的稳定性

[0068]

保护剂 (添加量)	测试 参数	2-8℃ 稳定性	15-25℃ 稳定性	-20℃ 稳定性	37℃ 稳定性
叠氮钠 (1g/L)	PT	4h	不稳定	不稳定	不稳定
	APTT	4h	不稳定	4d	不稳定
	TT	24h	24h	28d	不稳定
	FIB	24h	24h	23d	3d
苯甲酸钠 (1g/L)	PT	4h	不稳定	不稳定	不稳定
	APTT	8h	4h	不稳定	不稳定
	TT	24h	24h	28d	3d
	FIB	24h	24h	18d	不稳定

[0069] 苯甲酸盐和叠氮化合物是临床诊断试剂中常用的防腐成分。然而,发明人发现,这些类型的成分对凝血检测的各测试结果的稳定性有不利影响,应避免使用这些成分。

[0070] 2.向基质血浆加入一定浓度的下表所列保护剂。测试所得质控组合物在不同温度时的稳定性。

[0071] 表2.在不同温度时的稳定性

[0072]

保护剂	测试 参数	2-8℃ 稳定性	15-25℃ 稳定性	-20℃ 稳定性	37℃ 稳定性
蔗糖 (50g/L)	PT	8h	8h	28d	3d
	APTT	24h	8h	28d	3d
	TT	24h	24h	28d	3d
	FIB	24h	24h	28d	14d
BSA (50g/L)	PT	24h	24h	28d	7d
	APTT	24h	24h	28d	3d
	TT	24h	24h	28d	7d
	FIB	24h	24h	18d	不稳定
甘露醇 (60 g/L)	PT	24h	8h	28d	不稳定
	APTT	24h	8h	28d	不稳定
	TT	24h	24h	28d	不稳定
	FIB	24h	24h	23d	不稳定

[0073] 蔗糖、海藻糖、甘氨酸、BSA、HEPES、甘露醇均可作为真空冷冻干燥中的保护剂。经测试比对,蔗糖、BSA和甘露醇(次之)的保护作用明显。

[0074] 3.将筛选出来的蔗糖、BSA和甘露醇,分别以不同浓度进行组合,加入基质血浆,测试所得质控组合物的稳定性。

[0075] 表3.保护剂对稳定性、瓶间差和含水量的影响

[0076]

保护剂的组合	测试	2-8℃ 稳定性	15-25℃ 稳定性	-20℃ 稳定性	37℃ 稳定性	CV _{瓶间}	含水量
质控水平 1 蔗糖 (50g/L) BSA (20g/L) 甘露醇 (15g/L)	PT	24h	24h	28d	14d	0.52%	3.94% 4.32% 4.36%
	APTT	24h	24h	28d	14d	0.81%	
	TT	24h	24h	28d	14d	0.00%	
	FIB	24h	24h	28d	14d	2.33%	
质控水平 2 蔗糖 (50g/L) BSA (20g/L) 甘露醇 (15g/L)	PT	24h	24h	28d	14d	0.48%	4.62% 4.37% 4.43%
	APTT	24h	24h	28d	14d	1.05%	
	TT	24h	24h	28d	14d	1.99%	
	FIB	24h	24h	28d	14d	0.00%	
质控水平 3	PT	24h	24h	28d	14d	2.18%	4.00%

[0077]

蔗糖（50g/L） BSA（20g/L） 甘露醇（15g/L）	APTT	24h	24h	28d	14d	1.37%	3.32% 3.07%
	TT	24h	24h	28d	14d	1.70%	
	FIB	24h	24h	28d	14d	2.65%	
质控水平 1 蔗糖（30g/L） BSA（10g/L） 甘露醇（20g/L）	PT	8h	24h	28d	14d	1.89%	4.48% 3.75% 4.20%
	APTT	24h	24h	28d	14d	1.25%	
	TT	24h	24h	28d	14d	2.23%	
	FIB	24h	16h	28d	14d	6.56%	
质控水平 2 蔗糖（30g/L） BSA（10g/L） 甘露醇（20g/L）	PT	24h	24h	28d	10d	0.00%	4.27% 4.20% 3.85%
	APTT	24h	24h	28d	10d	2.25%	
	TT	24h	24h	28d	10d	1.66%	
	FIB	24h	24h	28d	7d	8.64%	
质控水平 3 蔗糖（30g/L） BSA（10g/L） 甘露醇（20g/L）	PT	24h	24h	28d	14d	0.00%	3.43% 4.56% 3.44%
	APTT	24h	24h	28d	14d	4.19%	
	TT	24h	24h	28d	10d	0.00%	
	FIB	24h	16h	28d	10d	0.00%	
质控水平 1 蔗糖（15 g/L） BSA（30 g/L） 甘露醇（10 g/L）	PT	24h	24h	28d	14d	3.89%	4.39% 3.75% 4.91%
	APTT	24h	16h	28d	14d	1.98%	
	TT	24h	24h	28d	14d	1.33%	
	FIB	24h	16h	21d	14d	4.50%	
质控水平 2 蔗糖（15 g/L） BSA（30 g/L） 甘露醇（10 g/L）	PT	24h	16h	28d	14d	2.28%	3.30% 6.06% 3.04%
	APTT	24h	16h	28d	14d	4.12%	
	TT	24h	24h	28d	14d	2.93%	
	FIB	24h	24h	28d	14d	7.28%	
质控水平 3 蔗糖（15 g/L） BSA（30 g/L） 甘露醇（10 g/L）	PT	24h	16h	28d	14d	0.00%	2.75% 4.45% 3.50%
	APTT	24h	16h	28d	14d	1.15%	
	TT	24h	24h	28d	14d	0.85%	
	FIB	24h	8h	28d	14d	0.00%	
质控水平 1、2、3 分别代表：落入前述 i）、ii）和 iii）限定的低中高三个水平。							

[0078] 发现蔗糖为50g/L、BSA为20g/L，甘露醇为15g/L时的保护作用最佳，因此作为最优保护剂组合。

[0079] 实施例2. 血浆处理方式对测值的影响

[0080] 对于质控组合物制备用的原料血浆而言，均难以获得足量的具有异常值的血浆以满足生产。因此采用对正常值的血浆进行处理的方式制备异常值的质控组合物，但是发明

人按照现有技术中的方法进行测值调整,往往导致PT和APTT在制备前后的变化幅度不一致。这主要问题在于:PT不能达到预期值时,APTT已远超出预期值。

[0081] 1.采用水浴方式处理血浆,用于调整数值范围。其中,PT不能达到预期值时,APTT已远超出预期值。而且,制备过程耗时太久,后期不凝固而报废生产原料(表4)。

[0082] 表4

步骤	操作过程	PT	APTT	TT	FIB
1	初始测值	12.40	43.40	23.55	1.12
2	37℃水浴1.0h	11.65	42.30	24.85	1.16
3	37℃水浴2.5h	11.80	44.50	24.80	1.07
4	37℃水浴5.0h	13.25	51.10	24.85	1.04
5	37℃水浴7.5h	16.65	62.70	24.70	1.21
6	39℃水浴1h	22.80	80.60	25.40	1.16
7	39℃水浴2.5h	25.80	86.20	25.35	1.21
8	39℃水浴5.0h	不凝固	不凝固	40.25	测值异常

[0084] 2.采用生理盐水稀释血浆,用于调整数值范围。其中,PT不能达到预期值,而APTT、TT、FIB已远远超出预期值(表5)。

[0085] 表5

血浆:生理盐水	PT	APTT	TT	FIB
1:0	15.05	40.00	23.20	1.37
9:1	15.60	51.25	25.00	1.15
8:2	17.14	74.26	47.25	0.62
1:1	不凝固	不凝固	不凝固	测值异常

[0087] 3.向血浆中添加柠檬酸钠或肝素调整数值范围。同样,PT不能达到预期值,APTT和/或TT已远超出预期值(表6)。

[0088] 表6

物质	添加量	PT	APTT	TT	FIB
柠檬酸钠	0	12.8	40.5	18.8	3.291
	6.25mmol/L	13.3	77	19.1	2.867
	12.5mmol/L	21.1	不凝固	18	2.625
	25mmol/L	不凝固	不凝固	21	2.551
肝素钠	0	13.8	39.2	16.6	2.625
	0.002‰	13.6	41.8	20.7	2.664
	0.004‰	13.6	43.2	22.5	2.48
	0.0125‰	14.4	54.4	不凝固	1.903
	0.025‰	14.3	84.3	不凝固	2.252
	0.05‰	14.7	不凝固	不凝固	1.903

[0090] 4.向加完保护剂的血浆中添加氢氧化铝,通过吸附去除部分凝血因子来调整数值范围。其中,PT能达到预期值,TT和FIB无显著变化,APTT仅小幅度超出预期范围,可用添加原料的方式纠正(表7)。

[0091] 表7.数值调整方法

[0092]	氢氧化铝添加量	PT	APTT	TT	FIB	是否添加保护剂组合
	0.00g/mL	11.5	40.3	20.1	1.68	否
	0.10g/mL	13.4	73.1	23.1	1.62	否
	0.10g/mL	13.0	43.4	19.3	1.75	是
	0.25g/mL	20.4	95.7	23.6	1.73	否
	0.25g/mL	16.9	51.4	21.0	1.89	是
	0.30g/mL	34.7	78.7	20.9	1.71	是
	0.35g/mL	55.1	77.6	20.8	1.72	是
	0.40g/mL	88.3	不凝固	25.9	1.79	否
	0.40g/mL	86.0	115.5	20.5	1.72	是

[0093] 最终确定的调整测值方案,向实施例1中添加完最优保护剂组合的血浆中,按照血浆基础测值和目标测值计算加入适量氢氧化铝,可得到合适的异常值血浆。

[0094] 制备例

[0095] 制备例1.质控组合物的制备方法

[0096] 1.血浆基质的来源和处理

[0097] 血浆基质源自人血浆(由临床机构或血液捐献站提供)。任选地,按照常规方法对人血浆进行无害化预处理,以避免环境污染和疾病传播。血浆基质不限于最终源自同一来源(比如同一个哺乳动物受试者),可以是多个受试者血浆的混合。

[0098] 经测试(例如但不限于胶体金法),血浆基质呈现HIV1抗体阴性、HIV2抗体阴性、肝炎B表面抗原阴性、肝炎C病毒抗体阴性、梅毒螺旋体阴性。本申请所述“阴性”是指待测物以检测方法检测不到的水平存在;或者完全不存在。

[0099] 2.质控组合物的制备

[0100] (1)采用市售试剂盒和公知方法,测试血浆基质中的各参数(即凝血酶原时间、活化部分凝血活酶时间、纤维蛋白原、凝血酶时间),以初步了解其测值情况。

[0101] 当制备质控组合物时,根据预设参数的低值或高值浓度范围,根据需要允许将源自不同来源(如源自不同临床机构或购自不同销售商)的血浆基质进行混合,使所得混合血浆基质中各参数测值满足初步浓度要求。

[0102] (2)向血浆基质中加入保护剂(蔗糖50g/L,BSA20g/L,甘露醇15g/L)并充分溶解混匀。

[0103] (3)正常值质控组合物:根据需要向血浆基质中引入一定量的血浆(例如来自哺乳动物),调节PT到目标值后添加一种或多种预期成分的原料,使得血浆基质中其余参数水平落入预期的范围。

[0104] (4)异常值质控组合物(包括高值质控组合物、低值质控组合物):根据需要,先向血浆基质中加入一定量的吸附剂(按实施例2第4方面优化方案进行)使其PT测值达到预期要求后,分离吸附剂,再向其中引入一种或多种预期成分,使得血浆基质中其余参

数水平落入预期的范围。

[0105] (5) 待混合均匀后,分装至容器中保存作为液体型质控组合物。

[0106] 3. 质控组合物的赋值:

[0107] 采用行业内常规定值方法对产品进行定值。

[0108] 制备例2.冻干型质控组合物的制备方法

[0109] 采用低温冷冻干燥技术,对质控组合物(制备例1所得)进行冻干,制备成冻干粉。

[0110] 测试例

[0111] 测试例1.含水量的测定(烘干减重法)

[0112] 随机抽取有效期内同一批号的3瓶冻干粉质控组合物(制备例2所得);分别将冻干粉倒入已干燥的称量瓶中称量,记录称量值、记算冻干粉初始质量,并求平均值 $\overline{M_{初}}$;然后将其置于105℃烘箱中烘烤2小时至恒重后,在干燥皿中冷却至室温后称量,记录称量值、记算冻干粉最终质量,并计算其平均值 $\overline{M_{终}}$ 。按以下公式计算质控组合物的含水量:

[0113] 含水量(%) = $(\overline{M_{初}} - \overline{M_{终}}) / \overline{M_{初}} \times 100$ 。

[0114] 表8. 质控组合物的含水量测定结果

质控组合物	含水量		
	1	2	3
低值质控	2.32%	2.25%	1.96%
异常低值质控	2.17%	2.10%	2.45%
异常高值质控	2.17%	2.69%	2.17%

[0116] 测试例2.均匀性测试

[0117] 按照下列方法进行均匀性检验,并计算 $CV_{瓶间}$ 。随机抽取10瓶的质控组合物(制备例2所得)并随机编号1至10,每瓶分别测量3次。

[0118] 测量顺序:考虑测量系统随时间等因素引起的随机变异,3次测量采用不同的顺序进行,例如1、3、5、7、9、2、4、6、8、10、10、9、8、7、6、5、4、3、2、1、2、4、6、8、10、1、3、5、7、9。记录测量结果,并按照下述公式计算 $CV_{瓶间}$ 。

[0119]
$$SS_{瓶间} = \sum_i (x_i - \bar{x})^2 n_i \dots\dots\dots (1)$$

[0120]
$$SS_{总和} = \sum_{ij} (x_{ij} - \bar{x})^2 \dots\dots\dots (2)$$

[0121]
$$SS_{瓶内} = SS_{总和} - SS_{瓶间} \dots\dots\dots (3)$$

[0122]
$$MS = \frac{SS}{v} \dots\dots\dots (4)$$

[0123]
$$F = \frac{MS_{瓶间}}{MS_{瓶内}} \dots\dots\dots (5)$$

[0124]
$$n_0 = \frac{1}{a-1} \left[\sum_{i=1}^a n_i - \frac{\sum_{i=1}^a n_i^2}{\sum_{i=1}^a n_i} \right] \dots\dots\dots (6)$$

[0125]
$$s_{bb} = \sqrt{\frac{MS_{\text{瓶间}} - MS_{\text{瓶内}}}{n_0}} \dots\dots\dots (7)$$

[0126]
$$s_r = \sqrt{MS_{\text{瓶内}}} \dots\dots\dots (8)$$

[0127]
$$CV_{\text{瓶间}} = \frac{s_{bb}}{\bar{x}} \dots\dots\dots (9)。$$

[0128] 表9. 质控组合物均匀性测定结果

[0129]

质控组合物	CV _{瓶间}			
	PT	APTT	FIB	TT
低值质控	1.04%	4.12%	1.66%	3.28%
异常低值质控	1.10%	4.21%	2.76%	3.02%
异常高值质控	0.89%	1.00%	2.53%	3.15%

[0130] 测试例3. 复溶稳定性

[0131] 对复溶后2℃至8℃、15℃至25℃、-15℃至-25℃保存到稳定期末的质控组合物与新鲜复溶后的质控组合物同时进行检测,至少各取1支,每支重复测定3次,其检测结果的平均值分别记为X和X_C,根据式(10),计算结果的相对偏差B。

[0132]
$$B = (X - X_C) / X_C \dots\dots\dots (10)$$

[0133] 表10. 质控组合物2℃至8℃复溶稳定性的测定结果

[0134]

质控组合物	24 小时与 0 小时相对偏差 B			
	PT	APTT	FIB	TT
低值质控	0.26%	2.67%	0.98%	0.26%
异常低值质控	-0.28%	3.67%	-2.81%	0.42%
异常高值质控	-3.87%	1.46%	1.53%	0.33%

[0135] 表11. 质控组合物15℃至25℃复溶稳定性的测定结果

[0136]

质控组合物	24 小时与 0 小时相对偏差 B			
	PT	APTT	FIB	TT
低值质控	-1.33%	4.31%	-2.09%	2.41%
异常低值质控	-0.93%	-0.40%	-2.63%	1.92%
异常高值质控	-4.86%	4.74%	0.86%	2.58%

[0137] 表12. 质控组合物-15℃至-25℃复溶稳定性的测定结果

	质控组合物	28 天与 0 天相对偏差 B			
		PT	APTT	FIB	TT
[0138]	低值质控	3.20%	2.31%	-0.25%	0.98%
	异常低值质控	4.59%	4.70%	1.09%	1.01%
	异常高值质控	2.41%	4.98%	0.79%	0.65%

[0139] 测试例4.加速稳定性

[0140] 在37℃条件下保存的质控组合物,在稳定性测试末期,与新复溶后的质控组合物同时进行检测,至少各取1支,每支重复测定3次,其检测结果的平均值分别记为X和XC,根据式(10),计算结果的相对偏差B。

[0141] 表13.质控组合物37℃加速稳定性测定结果

	质控组合物	14 天与 0 天相对偏差 B			
		PT	APTT	FIB	TT
[0142]	低值质控	1.39%	-0.68%	-1.68%	4.07%
	异常低值质控	0.86%	0.27%	2.58%	4.59%
	异常高值质控	2.24%	0.29%	1.72%	4.36%