

## • 论 著 •

## APTT ACTIN FSL 试剂对 APTT 及 VIII 因子检测的影响

刘艳红, 谢东平, 董小瑜

(武汉大学人民医院检验科, 湖北武汉 430060)

**摘要:**目的 探讨 Siemens 公司活化部分凝血活酶时间(APTT)ACTIN FSL 试剂对 APTT 及 VIII 因子检测的影响。**方法** 选取 20 例标本分别使用 APTT ACTIN 和 APTT ACTIN FSL 2 种试剂检测 APTT, 比较阴阳性符合率。选取 70 例标本分别使用以上 2 种试剂检测 VIII 因子, 比较阴阳性符合率。选取 120 例体检者建立 APTT 及 VIII 因子新的生物参考区间。选取 20 例体检者及 20 例确诊静脉血栓或血友病的患者验证新建参考区间的适用性。**结果** 改用 APTT ACTIN FSL 试剂后重新建立 APTT 和 VIII 因子的生物参考区间分别为 25.2~32.6 s 和 60%~189%。使用新的生物参考区间, 明显提高了 APTT 及 VIII 因子使用 2 种试剂检测结果的阴阳性符合率, 分别为 95.0% 和 90.0%。分别采用体检者及患者 APTT 及 VIII 因子的结果验证新参考区间均为合格。**结论** 将 Siemens 公司的 APTT ACTIN 试剂升级为 APTT ACTIN FSL 试剂后, 对 APTT 及 VIII 因子的检测影响较大, 实验室应修改或重新建立新的生物参考区间, 并进行验证。

**关键词:** APTT ACTIN FSL; 全自动血凝分析仪; 活化部分凝血活酶时间; VIII 因子

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.02.013 **中图法分类号:** R446.11

**文章编号:** 1673-4130(2020)02-0180-04

**文献标识码:** A

### The influence of APTT and VIII factor detection by using APTT ACTIN FSL reagent

LIU Yanhong, XIE Dongping, DONG Xiaoyu

(Department of Clinical Laboratory, Remin Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430060, China)

**Abstract: Objective** To explore the influence of activated partial thromboplastin time (APTT) and VIII factor by using APTT ACTIN FSL reagent of the Siemens company. **Methods** The negative and positive coincidence rates of APTT and VIII factor were compared by using both APTT ACTIN reagent and APTT ACTIN FSL reagent with 20 samples and 70 samples respectively. The new reference intervals of APTT and VIII factor were established with 120 healthy persons. The applicability of the new reference interval was verified by selecting 20 healthy persons and 20 patients with confirmed venous thrombosis or hemophilia. **Results** The reference interval of APTT and VIII with APTT ACTIN FSL reagent was 25.2—32.6 s and 60%—189%, which significantly improved the negative and positive coincidence rates of APTT and VIII factor (95.0% and 90.0%, respectively). The reference interval of APTT and VIII with APTT ACTIN FSL reagent was qualified by both healthy persons and patients. **Conclusion** The great influence on APTT and VIII was detected when APTT ACTIN reagent upgrade to APTT ACTIN FSL reagent, which followed that the laboratory must modify or re-establish the new reference interval and verify the applicability.

**Key words:** APTT ACTIN FSL; automatic blood coagulation analyser; APTT; VIII factor

活化部分凝血活酶时间(APTT)是内源性凝血系统功能缺陷较为灵敏和常用的筛选指标, 在监测肝素抗凝治疗中被广泛应用<sup>[1-4]</sup>。凝血因子Ⅷ是存在于血浆中的一种球蛋白, 曾被称为抗血友病因子或抗血友病球蛋白, 是内源性凝血途径中一种重要的凝血因子<sup>[5-6]</sup>。自 2018 年以来, Siemens 公司陆续将 APTT ACTIN 试剂更换升级为 APTT ACTIN FSL 试剂, 然而随着试剂成分发生变化, 可能会导致检验结果随

之改变, 是否会影响 APTT 及 VIII 因子的检测结果甚至影响临床诊疗判断, APTT 及 VIII 因子是否需要重新建立新的生物参考区间, 是凝血专业工作者困惑和争议的话题, 也是医学实验室需要重点关注的问题。因此, 本文进行了相关试验研究, 现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2018 年 8 月 3 月至 2018 年 9 月 10 日武汉大学人民医院住院患者及体检者共 250

**作者简介:** 刘艳红, 女, 副主任医师, 主要从事临床血液学及血栓与止血检验研究。

**本文引用格式:** 刘艳红, 谢东平, 董小瑜. APTT ACTIN FSL 试剂对 APTT 及 VIII 因子检测的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(2): 180-183.

例为研究对象,其中为建立参考区间收集体检者 120 例,年龄 22~68 岁,男 67 例,女 53 例。纳入、排除标准:过去 5 d 内未服用阿司匹林或含阿司匹林的药物、口服避孕药药物、抗血栓类药物(如巴曲酶等),排除妊娠期或哺乳期、月经期,7 d 内未做过手术,7 d 内未献过血,1 个月内未接受过输血,无溶血性贫血、再生障碍性贫血、凝血功能障碍等血液系统疾病,无胃癌、食管癌、肺癌、白血病等恶性肿瘤,无泌尿及生殖系统疾病,无红斑狼疮、风湿性关节炎等免疫系统疾病,无肝硬化、肝癌等严重肝脏疾病<sup>[7]</sup>。

**1.2 仪器与试剂** 使用日本 Sysmex 公司 CS-5100 全自动血凝分析仪,试剂均为 Siemens 公司配套生产,包括 APTT ACTIN (LOT: 557248A), APTT ACTIN FSL (LOT: 556942), 氯化钙 (LOT: 563828), 质控品由 Bio-Rad 公司提供 (LOT: 78470)。由厂家授权的工程师每半年对仪器加样系统、温控系统及光学系统进行校准。参加湖北省卫生健康委员会室间质评成绩均合格,每日标本检测前对所有项目进行质控分析,确保所有项目均在控后再进行标本检测。

### 1.3 方法

**1.3.1 标本采集** 采用 BD 公司凝血专用 0.109 mol/L 枸橼酸钠抗凝管抽静脉血至 2.7 mL 处,立即颠倒 5~8 次混匀,1 600 g 离心 10 min,分离血浆。排除有凝块、溶血、脂血等异常情况。及时上机检测,在室温下进行检测并在 4 h 内完成<sup>[8]</sup>。

**1.3.2 指标检测** 使用 APTT ACTIN 试剂检测患者血浆 APTT,按照实验室 APTT ACTIN 原用参考区间 20.0~40.0 s 进行判断,选取 20 例标本(<20.0 s 7 例,20.0~40.0 s 6 例,>40.0 s 7 例),使用 APTT ACTIN FSL 试剂重新检测 APTT。使用 APTT ACTIN 试剂检测患者血浆  $\text{VIII}$  因子,按照实验室  $\text{VIII}$  ACTIN 原用参考区间 70%~150% 进行判断,选取 70 例标本(<70% 2 例,70%~150% 49 例,>150% 19 例),使用 APTT ACTIN FSL 试剂重新检测  $\text{VIII}$  因子。

**1.3.3 生物参考区间的建立** 参照卫生行业标准<sup>[9]</sup>和临床实验室标准化协会(CLSI) C28-A3 文件推荐的方法<sup>[10]</sup>,将 120 例体检者血浆分别进行 APTT 和  $\text{VIII}$  因子检测,将所有测定结果先做数据离群点的判断,将疑似离群点和其邻点的差值  $D$  与数据全距  $R$  相除,求  $D/R$  比值,  $D/R=1/3$  为临界值,若  $D/R \geq 1/3$ ,则该疑似离群点为离群值,应予以剔去。若有 2 个或以上的疑似离群点,将最小的疑似离群点作上述处理,若  $D/R \geq 1/3$ ,则均为离群值,全部剔去;若  $D/R < 1/3$ ,则保留所有数据,剔除后须另外补齐体检健康者例数至 120 例<sup>[11-13]</sup>。

### 1.3.4 新建参考区间的验证

**1.3.4.1 随机收集 20 例体检标本,统计各参考个体**

检测值,与新建立的参考区间比较,计算比率  $R$

$$\text{比率}(R) = \frac{\text{检测值在新建生物参考区间内的参考个体数}}{\text{总的参考个体数}}$$

若  $R$  值  $\geq 95\%$ ,则生物参考区间或临床决定值被验证<sup>[14-15]</sup>。

**1.3.4.2 采用 1.3.2 中的 70 例患者及 20 例确诊静脉血栓或血友病的患者标本验证新建参考区间的适用性。**

**1.4 统计学处理** 应用 SPSS22.0 软件对检测结果进行统计学分析。绘制每组数据的分布图,了解该组数据的分布特性。建立参考区间时若数据呈正态分布可按  $\bar{x} \pm 1.96s$  描述,若数据不呈正态分布则用百分位数法确定 2.5% 和 97.5% 位数的参考限作为参考区间。组间比较采用  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 2 种试剂检测 APTT 和  $\text{VIII}$  因子的结果进行正态性检验分析** 回顾性分析本实验室近期 1 824 例数据,运用 SPSS 软件进行正态性检验,结果显示,APTT ACTIN、APTT FSL 和  $\text{VIII}$  FSL 均不符合正态分布,因此,2 组间采用  $\chi^2$  检验进行百分率的比较。

**2.2 APTT 和  $\text{VIII}$  因子分别使用 2 种试剂检测阳性率的比较** 取 20 例标本分别使用 APTT ACTIN 和 APTT ACTIN FSL 试剂检测 APTT,采用 APTT-ACTIN 的参考区间 20.0~40.0 s 作为判断标准,APTT FSL 和 APTT ACTIN 的阳性率分别为 15.0% 和 60.0%,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),二者的阴性符合率为 55.0%。取 70 例标本分别使用 APTT ACTIN 和 APTT ACTIN FSL 试剂检测  $\text{VIII}$  因子,采用  $\text{VIII}$  ACTIN 的参考区间 70%~150% 作为判断标准,  $\text{VIII}$  FSL 和  $\text{VIII}$  ACTIN 的阳性率分别为 61.4% 和 30.0%,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),二者的阴性符合率为 68.6%。见表 1。

表 1 2 种试剂检测 APTT 和  $\text{VIII}$  因子阳性率的比较  
(使用原参考区间)[%(n/n)]

指标	标本例数 (n)	ACTIN 试剂	FSL 试剂	阴性符合率
APTT(%)	20	60.0(12/20)	15.0(3/20) <sup>a</sup>	55.0(11/20)
$\text{VIII}$ 因子(%)	70	30.0(21/70)	61.4(43/70) <sup>a</sup>	68.6(48/70)

注:与 ACTIN 试剂比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ 。

**2.3 APTT 和  $\text{VIII}$  因子使用 APTT ACTIN FSL 试剂检测后分别重新建立新的生物参考区间** 按照实验室原用 APTT ACTIN 检测的参考区间 20.0~40.0 s 和  $\text{VIII}$  ACTIN 检测的参考区间 70%~150% 进行判断,计算 120 例入选合格体检者 APTT 的  $R$  值为 100.0%(120/120),  $\text{VIII}$  因子的  $R$  值仅为 79.2%(95/120)。采用百分位数法 2.5% 和 97.5% 的参考限作

为生物参考区间,确定 APTT FSL 的新生物参考区间为 25.2~32.6 s, VIII FSL 的新生物参考区间为 60%~189%。

**2.4 使用 APTT ACTIN FSL 试剂及新生物参考区间进行性别分组比较 R 值** 67 例男性体检者及 53 例女性体检者 2 组之间 APTT FSL 的 R 值分别为 98.5% 和 96.2%, VIII FSL 的 R 值分别为 95.5% 和 96.2%, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 2。

表 2 使用 APTT ACTIN FSL 试剂及新生物参考区间进行性别分组比较 R 值 [% (n/n)]

性别	n	APTT FSL R 值	VIII FSL R 值
男性	67	98.5(66/67)	95.5(64/67)
女性	53	96.2(51/53) <sup>a</sup>	96.2(51/53) <sup>a</sup>

注: 男女性比较, <sup>a</sup> $P > 0.05$ 。

**2.5 随机选取 20 例体检标本验证新参考区间的适**

表 3 2 种试剂检测 APTT 和 VIII 因子阳性率的比较(使用新参考区间) [% (n/n)]

指标	n	ACTIN 试剂	FSL 试剂	原区间阴性符合率	新区间阴性符合率
APTT	20	60.0(12/20)	55.0(11/20) <sup>a</sup>	55.0(11/20)	95.0(19/20) <sup>b</sup>
VIII 因子	70	30.0(21/70)	40.0(28/70) <sup>a</sup>	68.6(48/70)	90.0(63/70) <sup>b</sup>

注: <sup>a</sup> $P > 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ 。

**2.7 用确诊疾病患者的结果验证参考区间是否合适** 采用新的参考区间对 15 例静脉血栓及 5 例血友病患者 APTT 及 VIII 因子结果进行分析判断,结果显示,所有静脉血栓患者的 APTT 均  $< 25.2$  s, VIII 因子均  $> 189\%$ ;所有血友病患者的 APTT 均  $> 32.6$  s, VIII 因子均  $< 60\%$ ,且无漏诊病例出现。

### 3 讨 论

2018 年以来, Siemens 公司为了更好地提升产品的品质,陆续将 APTT ACTIN 试剂升级为 APTT ACTIN FSL 试剂,试剂成分的主要变化是在 APTT ACTIN 原有的磷脂成分兔脑粉中增添了提纯的大豆粉。厂家声明,APTT ACTIN FSL 试剂与 APTT ACTIN 相比较具有更好的因子灵敏度和狼疮抗凝物灵敏度等优点。然而,试剂成分的变化是否会影响 APTT 及 VIII 因子的检测结果,使用 APTT ACTIN 试剂检测 APTT 及 VIII 因子时的生物参考区间是否仍然适用于新试剂,是每位检验工作者需要重点关注的事情,本实验室为 APTT ACTIN FSL 试剂对 APTT 及 VIII 因子检测结果的影响进行了相关试验研究。

回顾性分析本实验室近期 1 824 例数据后发现,APTT ACTIN、APTT FSL 和 VIII FSL 均不符合正态分布,因此,2 组间的比较均采用百分率进行比较。研究表明,当试剂升级为 FSL 之后,如果仍然使用原来 APTT ACTIN 和 VIII ACTIN 的生物参考区间(分别为 20.0~40.0 s 及 70%~150%),2 种试剂检测结果

用性 随机选取 20 例体检标本使用新参考区间进行验证,APTT FSL 的 R 值为 95.0% (19/20), VIII FSL 的 R 值为 100.0% (20/20),所有验证的 R 值均  $\geq 95.0\%$ 。

**2.6 用普通患者标本验证参考区间的适用性** 使用 APTT ACTIN 试剂采用原参考区间 20.0~40.0 s 及 70%~150%,使用 APTT ACTIN FSL 试剂采用新生物参考区间 25.2~32.6 s 及 60%~189%,分别重新对 2.2 中标本 APTT 和 VIII 因子的检测结果进行阴性判断,20 例标本 APTT FSL 和 APTT ACTIN 的阳性率分别为 55.0% 和 60.0%,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),且二者阴阳符合率达到 95.0%,显著升高 ( $P < 0.01$ );70 例标本 VIII FSL 和 VIII ACTIN 的阳性率为 40.0% 和 30.0%,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),二者阴阳性符合率为 90.0%,明显升高 ( $P < 0.01$ )。见表 3。

的阴性符合率太低(分别为 55.0% 和 68.6%),将会影响临床诊疗判断,无法满足临床需求。为此,实验室选取 120 例符合纳入标准的健康体检者,虽然 APTT 的 R 值达到了 100.0%,但 VIII 因子的 R 值仅为 79.2%,必须重新建立新的生物参考区间。

重新建立 APTT FSL 和 VIII FSL 的生物参考区间分别为 25.2~32.6 s 和 60%~189%。改用新参考区间之后,2 种试剂检测结果的阴性符合率均明显升高 ( $P < 0.01$ ),且均  $\geq 90.0\%$ ,120 例健康体检者男女两组之间的 R 值亦无差异 ( $P > 0.05$ )。选取 20 例体检者对新参考区间进行验证, R 值均  $\geq 95.0\%$ ,20 例确诊静脉血栓或血友病的患者标本均无漏诊/误诊病例,经验证,新建参考区间适用有效。另外,在比较分别使用 2 种试剂后 APTT 及 VIII 因子的生物参考区间时发现,当将试剂升级为 APTT ACTIN FSL 之后,APTT 的参考区间范围比使用 APTT ACTIN 试剂时明显变窄,而 VIII 因子的参考区间范围明显变宽,说明 APTT ACTIN FSL 试剂在正常标本的反应性较 APTT ACTIN 试剂更为稳定,凝固时间的变化对应于 VIII 因子的幅度变化也更为合适,进而导致 VIII 因子的参考范围更宽一些,由此也证实厂家声明的 APTT ACTIN FSL 试剂具有更好的因子灵敏度的优点。

### 4 结 论

为了降低临床漏诊及误诊风险,在使用 Siemens 公司 APTT ACTIN 试剂升级后的 APTT ACTIN

FSL 试剂时,实验室检测 APTT 及Ⅸ因子时应修改或重新建立新的生物参考区间,并进行验证。

## 参考文献

- [1] ÖZÇAY F, KARADAĞÖNCEL E, BARIS Z, et al. Etiologies, outcomes, and prognostic factors of pediatric acute-liver failure: a single center's experience in Turkey[J]. *Turk J Gastroenterol*, 2016, 27(5): 450-457.
- [2] FANGTHAM M, PETRI M. 2013 update: hopkins lupus cohort[J]. *Curt Rheumatol Rep*, 2013, 15(9): 360.
- [3] NOWAK GOETTL U, LIMPERGER V, BAUER A A, et al. Bleeding issues in neonates and infants-update 2015 [J]. *Thromb Res*, 2015, 135(1): 41-43.
- [4] 吴秀继,唐爱国,邓碧兰,等.凝血四项及 AT-Ⅲ、D-二聚体在肝硬化患者中的变化及临床意义[J].国际检验医学杂志,2014,35(6):755-756.
- [5] JENKINS P V, RAWLEY O, SMITH O P, et al. Elevated factor Ⅷ levels and risk of venous thrombosis[J]. *Br J Haematol*, 2012, 157(6): 653-663.
- [6] 周文宾,李臣宾,张海鹏,等.凝血因子Ⅷ和Ⅸ活性检测参考物质的互通性研究[J].中华医学杂志,2015,95(34): 2754-2759.
- [7] 李小佩,王建新,施秀英,等.Bootstrap 方法建立生物参考区间的研[J].检验医学与临床,2016,13(9): 1161-1163.
- [8] 邹琛,高原.0~3岁婴幼儿凝血功能参考区间的建立[J].检验医学,2018,33(2):106-109.
- [9] 中华人民共和国卫生部.临床实验室检验项目参考区间
- 的制定:WS/T402—2012[S].北京:中国标准出版社,2013.
- [10] Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline-third edition: C28-A3[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2008: 28-61.
- [11] KHAIRY G, AL GHUMLAS A, AL DOHAYAN A, et al. Haemostatic changes in laparoscopic cholecystectomy: a comparison between upper and lower limb measurements[J]. *Surgical Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*, 2010, 20(2): 79-83.
- [12] 官燕飞,彭建明,刘树沅,等. STA-R 凝血分析仪检测 D-二聚体的性能验证[J].国际检验医学杂志,2013,34(14):1875-1877.
- [13] CATFORD K, MUTHUKUMAR P, REDDY C, et al. Routine neonatal coagulation testing increases use of fresh-frozen plasma[J]. *Transfusion*, 2014, 54(5): 1444-1445.
- [14] ZAREBA P, WU C, AGZARIAN J, et al. Meta-analysis of randomized trials comparing combined compression and anticoagulation with either modality alone for prevention of venous thromboembolism after surgery[J]. *Br J Surg*, 2014, 101(9): 1053-1062.
- [15] CHRISTENSEN R D, BAER V L, LAMBERT D K, et al. Reference intervals for common coagulation tests of preterm infants[J]. *Transfusion*, 2014, 54(3): 627-632.

(收稿日期:2019-05-18 修回日期:2019-09-25)

(上接第 179 页)

- [4] 中华医学会肝病学分会,中华医学会感染病学分会.慢性乙型肝炎防治指南(2015 年版)[J].实用肝脏病杂志,2016,19(3):389-400.
- [5] LI X, LIU X, TIAN L, et al. Cytokine-Mediated Immunopathogenesis of hepatitis B Virus Infections[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2016, 50(1): 41-54.
- [6] ZHANG Y Y, HU K Q. Rethinking the pathogenesis of hepatitis B virus (HBV) infection[J]. *J Med Virol*, 2015, 87(12): 1989-1999.
- [7] WANG X, TIAN Z.  $\gamma\delta$ T cells in liver diseases[J]. *Front Med*, 2018, 12(3): 262-268.
- [8] CHEN X, SHANG W, XU R, et al. Distribution and functions of gammadelta T cells infiltrated in the ovarian cancer microenvironment[J]. *J Transl Med*, 2019, 17(1): 144.
- [9] CONROY M J, MAC NICHOLAS R, TAYLOR M, et al. Increased frequencies of circulating IFN-gamma-producing vdelta1(+) and vdelta2(+) gammadelta T cells in patients with asymptomatic persistent hepatitis B virus infection[J]. *Viral Immunol*, 2015, 28(4): 201-208.
- [10] 胡辛,胡春松,黄保军.自然杀伤细胞分泌干扰素  $\gamma$  促进乙型肝炎病毒的清除[J].安徽医科大学学报,2017,52(2):215-220.
- [11] 王芳,谢梅.白细胞介素-1b、10、13 和干扰素- $\gamma$  对慢性乙型肝炎患者乙型肝炎表面抗原和血清学转换的影响[J].肝脏,2018,23(9):806-809.
- [12] MCGEACHY M J, CUA D J, GAFFEN S L. The IL-17 family of cytokines in health and disease[J]. *Immunity*, 2019, 50(4): 892-906.
- [13] 薛春雪,温铭杰,刘萌,等.  $\gamma\delta$ T17/Th17/Tc17 细胞在 H1N1 重症感染小鼠肺中的分布及其与肺脏免疫损伤的关系[J].中国免疫学杂志,2017,33(4):563-568.
- [14] SANDHU A, AHMAD S, KAUR P, et al. Methotrexate preferentially affects Tc1 and Tc17 subset of CD8 T lymphocytes[J]. *Clin Rheumatol*, 2019, 38(1): 37-44.
- [15] 王娟华,胡敏涛,吴杭源,等.慢性乙型肝炎患者 Th17/Tc17 影响病毒复制和肝细胞损伤[J].世界华人消化杂志,2014,22(30):4638-4641.
- [16] GRAFMUELLER S, BILLERBECK E, BLUM H E, et al. Differential antigen specificity of hepatitis C virus-specific interleukin 17 and interferon gamma-producing CD8(+) T cells during chronic infection[J]. *J Infect Dis*, 2012, 205(7): 1142-1146.

(收稿日期:2019-05-29 修回日期:2019-10-13)