معرف فسفولیپیدی آزمون aPTT
Product Code: PR9161

موارد استفاده:

این معرف برای سنجش نسبی فاکتورهای مسیر داخلی انعقاد خون بر اساس آزمون aPTT با استفاده از فعال‌کننده الاجیک اسید است.

مقدمه و اساس آزمون:

از آزمون aPTT برای غربالگری و همچنین سنجش کمی فاکتورهای مسیر ذاتی انعقاد استفاده می‌شود. این آزمون ساده به نقصان تمام فاکتورهای انعقادی پلاسما غیر از فاکتور ۷ حساس است. بااین‌حال aPTT عمدتاً جهت تشخیص نقص در فاکتورهای ۸، ۹، ۱۱، ۱۲ و فاکتور پری‌کالیکرین استفاده می‌شود. همچنین، ازآنجاکه زمان طولانی انعقاد مستقیماً با افزایش مقدار هپارین ارتباط دارد، معمولاً aPTT برای پیگیری درمان با هپارین قابل‌استفاده است.

آزمون aPTT با افزودن این معرف به نمونه مورد آزمایش انجام می‌گیرد. جهت فعال‌سازی بهینه، مخلوط این دو، برای مدت ۳ دقیقه در دمای ۳۷°C، انکوبه و در نهایت با افزودن محلول کلرید کلسیم، زمان تشکیل لخته ثبت می‌شود. محلول کلرید کلسیم با کد محصول CS9161 از این شرکت قابل‌تهیه است.

معرف فسفولیپیدی aPTT:

این معرف به‌صورت آماده مصرف است.

محتویات معرف: فسفولیپید، اسید الاجیک، فنل، بافر، نمک، پایدارکننده و نگهدارنده.

شرایط نگهداری:

معرف در دمای ۸-۲ °C، نگهداری و از یخ‌زدگی آن جلوگیری شود. ویال باز نشده تا اتمام تاریخ مصرف و ویال بازشده تا ۳۰ روز در دمای ۸-۲ °C قابل‌استفاده است. در نگهداری طولانی مدت ممکن است رسوب ایجاد شود که با تکان دادن آرام معرف از بین می‌رود. نتایج اشتباه، مقادیر کنترل کیفی بیرون از محدوده یا تغییر رنگ محصول ممکن است نشان‌دهنده فساد معرف باشد.

جمع‌آوری نمونه: برای آزمون‌های انعقادی توصیه می‌شود از ضدانعقاد تری‌سدیم سیترات ۳/۲ درصد (وزنی/حجمی) استفاده شود. از پلاسمای دارای همولیز و یا آغشته با مایعات بافتی استفاده نشود. نمونه‌هایی که حجم آن‌ها از ۹۰ درصد مقدار مورد نیاز برای آزمون کمتر است، رد شوند. برای تهیه پلاسما، خون را به مدت ۱۵ دقیقه در شتاب ۱۵۰۰g سانتریفیوژ کنید. اگر نمونه پلاسما در دمای ۲۴-۲۲ °C نگهدای می‌شود بایستی آزمون در عرض ۲ ساعت انجام گیرد.

- در مخلوط‌کردن خون با ضدانعقاد تأخیر نشود.
- از تشکیل کف بر روی نمونه اجتناب گردد.
- فقط از ظروف پلاستیکی یا شیشه‌ای سیلیکونه استفاده شود.
- نمونه‌های کدر، ایکتریک (زرد پررنگ یرقان)، لیپمیک و همولیزشده ممکن است نتایج اشتباه ایجاد کنند.
- انجماد و ذوب پلاسمای حاوی سلول‌های باقیمانده، موجب آسیب غشای سلولی می‌شود و نتایج را تحت تأثیر قرار می‌دهد.
- برای نمونه‌های پلاسما با هماتوکریت بیرون از محدوده ۲۰ تا ۵۵ درصد بهتر است مقدار ضدانعقاد به طور مناسب تنظیم شود.

روش انجام آزمایش:

مواد و لوازم فراهم‌شده: معرف فسفولیپیدی آماده که به‌صورت بسته‌های زیر قابل‌عرضه است: ۴ ml × ۱۰ یا ۴ ml × ۱ و ۱۰ ml × ۱۰ یا ۱۰ ml ×۱

مواد و لوازم موردنیاز که فراهم نشده است: محلول کلرید کلسیم، کرونومتر یا تایمر، سمپلر ۱۰۰ میکرولیتر دقیق، پلاسمای کنترل نرمال و غیرنرمال.

این معرف برای استفاده دستی یا دستگاهی (مکانیکی، نوری، نفلومتری) مناسب است.

برای استفاده در روش دستی:

ابتدا محلول کلرید کلسیم را در دمای ۳۷°C گرم نمایید.

مقدار ۰/۱ ml از پلاسما را داخل کووت یا لوله گاما ریخته و در ۳۷°C گرم کنید.

مقدار ۰/۱ ml از معرف را به پلاسما، اضافه و مخلوط کنید.

به‌منظور فعال‌سازی، مخلوط معرف-پلاسما را ۳ دقیقه در ۳۷°C انکوبه نمایید. جهت هماهنگی نتایج، زمان فعال‌سازی تمام نمونه‌ها یکسان در نظر گرفته شود.

مقدار ۰/۱ ml از محلول کلرید کلسیم گرم‌شده به مخلوط معرف-پلاسما، اضافه و بلافاصله زمان تشکیل لخته را اندازه‌گیری نمایید.

نتایج:

زمان انعقاد برای هر پلاسما باید با دقت ۰/۱ ثانیه گزارش شود. همچنین محدوده مرجع نرمال می‌تواند جهت مقایسه گزارش شود. به‌هیچ‌وجه نتایج نمونه بیماران نسبت به زمان انعقاد کنترل پلاسمای تجاری تصحیح و گزارش نشود. کنترل‌ها باید تنها برای اطمینان از کیفیت سیستم آزمون استفاده شوند.

محدوده طبیعی آزمون ***۲۷*** تا ***۳۸*** ثانیه است که این زمان می‌تواند براثر عواملی دچار تغییر شود.

محدودیت‌ها:

فرآیند انعقاد شامل مجموعه‌ای از واکنش‌ها است که تحت تأثیر انواعی از شرایط و متغیرها قرار دارد. این متغیرها باید کنترل شوند تا نتایج تکرارپذیر گردد.

محدودیت تکنیکی:

- اگر پلاسما در معرض هوا باشد ممکن است pH آن تغییر کند، بنابراین درب نمونه‌ها کاملاً بسته باشد.
- این معرف برای کار در دمای ۳۷ °C طراحی شده‌است. بنابراین دمای انکوباسیون باید به‌طور مرتب کنترل شود.
- تمامی لوازم آزمایشگاهی باید تمیز و عاری از هرگونه مواد شیمیایی و شوینده باشد.
- جهت نگهداری مناسب، همیشه از راهنمای کارخانه سازنده معرف پیروی نمایید.

مواد مداخله‌گر:

- اگزالات سدیم، EDTA و هپارین ضد انعقادهای مناسبی برای آزمون aPTT نیستند.
- گزارش شده‌است که داروهای خوراکی ضد بارداری، استروژن، داروهای کومارینی، هپارین، آسپارژیناز، نالوکسان و بارداری نتایج آزمون aPTT را تحت تأثیر قرار می‌دهند.

کنترل کیفی:

به‌منظور کنترل کیفی معرف می‌توان از سطوح پلاسمای کنترل ۱، ۲ و ۳ نرمال و غیرنرمال تجاری موجود در بازار به همراه نمونه‌های بیماران استفاده کرد. بهتر است یک کنترل نرمال و حداقل یک کنترل غیرنرمال ابتدای آزمون‌های هر روز استفاده شود.

"هر آزمایشگاه می‌بایست محدوده نرمال آزمایش را با توجه به شرایط انجام آزمایش تعیین نماید"

- آزمایشگاه می‌بایست در هر بار استفاده از معرف با انجام فرآیند کنترل کیفیت از صحت نتیجه آزمایش اطمینان حاصل نماید.
- برای بیماران بستری در بیمارستان که تحت درمان با هپارین هستند و نتیجه آزمایش aPTT در مانیتورینگ و تنظیم دوز دارویی آنان تأثیرگذار است، در هر بار استفاده از معرف، استفاده از پلاسمای کنترل تجاری معتبر در دو سطح Normal و High الزامی است.
- حساسیت معرف نسبت به کمبود فاکتورهای VIII و IX و وجود مهارکننده‌هایی مانند لوپوس آنتی کوآگولانت (LPA)، مناسب ولی نسبت به وجود هپارین در نمونه بیماران بستری و تحت درمان، پایین است.

"آزمایشگاه می بایست در فرآیند تصدیق هر سری ساخت معرف، در پنل نمونه های انتخابی از تعدادی نمونه با نتیجه بالای ۱۰۰ ثانیه نیز در مقایسه با یک معرف معتبر و برند متفاوت دیگر استفاده نماید" .

ویژگی‌ها و کار آیی :

حساسیت به هپارین: خاصیت ضد انعقادی هپارین به فاکتورهای بسیاری از جمله میزان کافی آنتی ترومبین III، فعال‌سازی پلاکت‌ها و متعاقب آن رهایش فاکتور ۴ پلاکتی طی نمونه‌گیری، حضور سایر داروها، سرعت متابولیسم هپارین، نحوه تجویز و مصرف هپارین و تأخیر در انجام آزمون بستگی دارد. درصورتی‌که این متغیرها شناسایی شوند، آزمایشگاه می‌تواند حساسیت نسبی معرف به هپارین را با اضافه کردن مقادیر مشخص از هپارین به پول پلاسمای نرمال و انجام آزمون aPTT، تعیین کند. برای مثال، نتایج حساسیت به هپارین یک سری ساخت معرف شرکت با دستگاه نوری در جدول ۱ آمده است. ازآنجاکه اختلافات حساسیت به هپارین می‌تواند ناشی از برندهای مختلف هپارین، منشأ بافتی و اشکال نمکی آن باشد، توصیه می‌شود هر آزمایشگاهی منحنی حساسیت به هپارین خود را با استفاده از منبع یکسان هپارین استفاده شده در درمان بیماران موسسه یا منطقه ایجاد کند.

تعیین دامنه درمانی با هپارین:

دامنه aPTT برای هپارین درمانی باید در هر آزمایشگاه با تعیین دامنه aPTT مربوط به محدوده غلظت هپارین توصیه شده، ترجیحاً با استفاده از پلاسمای بیماران تحت درمان هپارین تعیین شود.

دامنه aPTT درمانی که با استفاده از پلاسما افراد عادی با غلظت هپارین مشخص در آزمایشگاه تعیین می‌شود، معمولاً بیشتر است اما به‌طور کلی قابل قبول است.

پیشنهاد می‌شود که حساسیت aPTT با انجام آزمون در مخلوط‌های مختلف پلاسمای طبیعی و پلاسمای ناقص مورد بررسی قرار گیرد.
هنگام استفاده از منابع مختلف پلاسما، لیوفیلیزه یا فریزشده و یا از تولیدکنندگان مختلف، نتایج به‌دست آمده متفاوت است.
پلاسمای کنترل طبیعی و پلاسماهای ناقص لیوفیلیزه با یک میلی‌لیتر آب مقطر محلول سازی شوند. رقت‌های پلاسمای نرمال و پلاسمای ناقص با نسبت‌های زیر برای دستیابی به دامنه بین ۱۰۰-۹۰IU/DL و ۱< فعالیت تهیه گردند.
10: 0 , 9:1 , 8:2 , 7:3 , 6:4 , 5:5 , 4:6 , 3:7 , 2:8 , 1:9 , 0:10
نتایج به‌دست‌آمده از رابطه aPTT - Factor Activity یک نمودار غیرخطی خواهد بود.

توجه:

مقادیر هپارین جزء جزء نشده (unfractionated) با دوز اندک که به‌صورت زیر جلدی جهت پیشگیری (مثلاً ۵۰۰۰ واحد دو بار در روز) استفاده می‌شود، توسط آزمون‌های انعقادی پایش نمی‌گردد زیرا مقادیر با دوز اندک جزء جزء نشده، آزمون‌های aPTT و PT را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد. تعداد پلاکت جهت شناسایی و تشخیص کاهش پلاکت ناشی از مصرف هپارین بایستی تحت بررسی دوره‌ای قرار گیرد. سطوح درمانی هپارین (با دوز کامل) که برای درمان ترومبوز ورید عمقی (DVT) و سایر موارد استفاده می‌شود، زمان aPTT را طولانی می‌کند. هنگامی که aPTT به‌طور چشمگیر طولانی شود، طولانی شدن خفیف‌تر PT نیز بسته به نوع معرف PT اغلب مشاهده می‌گردد. در موارد درمان با دوز بالای هپارین، مانند جراحی بای پس قلبی-ریوی، aPTT به حدی طولانی می‌شود (بیشتر از ۱۵۰ ثانیه) که لخته شدن در نمونه آزمایش رخ نمی‌دهد، ازاین‌رو به‌جای آن از آزمون زمان فعال‌شده لخته سازی (Activated Clotting Time) استفاده می‌شود.
در موارد کمبود یک فاکتور به‌تنهایی، aPTT تنها زمانی طولانی‌تر از حد طبیعی می‌شود که فاکتور مورد نظر به حدود ۱۵ تا ۴۵ درصد میزان طبیعی کاهش یابد.
مقدار طبیعی aPTT لزوماً دال بر رد کمبود یکی از فاکتورهای سیستم مسیر داخلی انعقاد نیست. به‌خصوص زمانی که از معرف‌های دارای حساسیت پایین استفاده می‌شود. با توجه به این‌که افزایش میزان فاکتور ۸ (پروتئین فاز حاد) می‌تواند زمان aPTT را کوتاه کند، باید تفسیر aPTT در بیماری‌های التهابی بااحتیاط انجام پذیرد.

نتایج آزمون aPTT (ثانیه)	غلظت هپارین (واحد/ml)
۳۲/۵	۰/۰
۳۸/۹	۰/۱
۴۱/۴	۰/۲
۴۶/۸	۰/۳
۵۴	۰/۴
۸۲/۵	۰/۵

جدول۱. حساسیت معرف به غلظت‌های مختلف هپارین اضافه‌شده به مخلوط پلاسمای نرمال

حساسیت به فاکتور ۸ و فیبرینوژن:

کرایو پور پلاسما حاوی مقادیر خیلی کم فیبرینوژن، فاکتور۸ و فون ویلبراند است، اما سایر فاکتورهای پلاسمایی را به حد کافی دارد. آزمایشگاه می‌تواند حساسیت نسبی معرف به فیبرینوژن و فاکتور۸ را با اضافه کردن مقادیر مشخص از کرایو پور پلاسما به مخلوط پلاسمای نرمال و انجام آزمون aPTT، تعیین کند. حساسیت یک سری ساخت معرف به کرایو پور پلاسما در جدول ۲ آمده است.

Cryo Poor Plasma	APTT (seconds)
۱۰۰	۶۳/۵
۹۰	۵۲/۸
۸۰	۴۷/۷
۷۰	۴۵/۲
۶۰	۴۲/۸
۵۰	۴۰/۷
۴۰	۲۸/۵
۳۰	۳۶/۵
۲۰	۳۵
۱۰	۳۳/۵
۰	۳۲/۵

جدول ۲. حساسیت معرف به نسبت‌های مختلف کرایو پور پلاسمای اضافه‌شده به پول پلاسمای نرمال

مقایسه روش‌ها: در مقایسه انجام‌شده جهت ارزیابی معرف با یکی از متداول‌ترین معرف‌های فسفولیپیدی از یک شرکت دیگر نتایج زیر به دست آمد:

	aPTT Correlation
خطی بودن	y = 1.0621x - 6.4146 R² = 0.9944
ویژگی عملکردی	y = 1.0113x + 1.5453 R² = 0.9974

نکات:

- آزمایشگاه در برگه نتیجه آزمایش، به نحو مقتضی به پزشک اطلاع‌رسانی نماید که "جهت تعیین مقدار هپارین، فقط به نتیجه آزمایشگاه اکتفا نکند و با توجه به سوابق، علائم بالینی و نتیجه آزمایش، در خصوص دوز هپارین تصمیم‌گیری نماید".

- هرگونه عدم انطباق درنتیجه آزمایش مستقیماً به بخش پشتیبانی شرکت اطلاع داده شود تا در اسرع وقت مشکل بررسی و راهنمایی لازم ارائه شود و یا در صورت نیاز کیت جدید جایگزین گردد.

CONTENT	Box Content	LOT	Batch code
	Date of manufacture		Manufacturer
Σ	Sufficient for		Do not Freeze
REF	Catalogue number		Consult instructions for use
IVD	*In vitro* diagnostic device		Use by
NON STERILE	Non-sterile		Temperature limitation between 2 - 8 °C

شرکت زیست تولید رازی

ایران، کرمانشاه، شهرک صنعتی بیستون، خیابان دکتر محمد کرمانشاهی، مرکز زیست‌فناوری کاربردی.

تلفن شرکت: ۹۸۸۳۳۷۱۰۸۳۷۶+ ایمیل:appliedbiocenter@gmail.com

سایت:www.razibiotech.com

تولید شده در **شرکت دانش‌بنیان زیست تولید رازی**