

بروشور Heamostica dRVVT Screen/confirm kit

شماره بروشور	SA08 & SA082	REF
--------------	--------------	-----

لطفا قبل از انجام آزمایش، اطلاعات موجود در برگه راهنمای انجام آزمایش را به دقت بخوانید

موارد مصرف

کیت های Heamostica dRVV Screen و Heamostica dRVV Confirm برای تشخیص ضد انعقادهای لوپوس (LA) در پلاسما مورد استفاده قرار می گیرد (۱).

مقدمه

ضد انعقاد های لوپوسی (LA)، اتو آنتی بادی هایی هستند که توسط سیستم ایمنی علیه فسفولیپیدها و یا پروتئین های مرتبط با فسفولیپید تولید می شود (۲). این آنتی بادی ها به دلیل میانکنش با فسفولیپیدها منجر به طولانی شدن نتیجه ی تست های وابسته به فسفولیپید در آزمایشگاه می شوند. همچنین در داخل بدن، وجود این آنتی بادی ها (LA) موجب مستعد شدن فرد جهت ایجاد لخته در ورید و شریان ها به خصوص وریدهای ساق پا می شود. این لخته ها می توانند منجر به انسداد عروق و حتی ایجاد سکنه مغزی، سکنه قلبی، آمبولی ریه و سقط جنین های مکرر به خصوص در سه ماهه دوم و سوم بارداری شوند (۲-۵). همانطور که ذکر شد در محیط آزمایشگاه وجود این آنتی بادی ها موجب طولانی شدن نتیجه ی تست های وابسته به فسفولیپید مثل PTT می شود.

اصول آزمایش

در معرف های Heamostica dRVV Screen و Heamostica dRVV Confirm سم مار افعی راسل وجود دارد. سم مار افعی راسل در حضور کلسیم به عنوان یک فعال کننده فاکتور X انعقادی عمل می کند و آبشار انعقادی را در پایین دست فاکتور X فعال می کند و در نتیجه تحت تأثیر عوامل انعقادی که در بالادست فاکتور X انعقادی قرار دارند، قرار نمی گیرد (۱). در نتیجه نقص فاکتورهای تماسی و کمبود یا وجود مهارکننده علیه فاکتورهای انعقادی VIII و IX، اثری بر نتیجه ی این تست ندارد. تست Heamostica dRVV Screen با غلظت کم فسفولیپیدها انجام می شود و اگر LA وجود داشته باشد، زمان ایجاد لخته طولانی می شود (۱). در مقابل تست Heamostica dRVV Confirm حاوی غلظت بالاتری از فسفولیپیدها است که این فسفولیپید اضافی باعث خنثی شدن ضد انعقاد لوپوسی موجود در پلاسما می شود و در نتیجه، زمان لخته شدن به دست آمده با Heamostica dRVV Confirm کوتاه تر از زمان لخته شدن Heamostica dRVV Screen خواهد بود و نسبت dRVV Screen به dRVV Confirm افزایش می یابد.

هر کیت دارای ویال معرف Heamostica dRVV Screen و یا Heamostica dRVV Confirm است که حاوی زهر مار افعی راسل، فسفولیپید، کلسیم و مهارکننده هپارین (UFH) و سدیم آزاید به صورت لیوفیلیزه می باشد.

احتیاط

کیت در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد نگهداری شود. این معرف ها فقط باید توسط پرسنل آزمایشگاه پزشکی دارای مجوز استفاده شوند. مراقب باشید که فقط از معرف های یک کیت با یک لات نامبر استفاده کنید.

در برخورد با این معرف ها و نمونه های بیمار دقت زیادی به خرج دهید. دفع مواد زائد باید مطابق مقررات محلی انجام شود.

معرف ها حاوی سدیم آزاید به عنوان نگهدارنده است. از بلعیدن خودداری کنید. در صورت تماس با چشم، فوراً چشم ها را با آب فراوان شسته و تحت مراقبت های پزشکی قرار بگیرید.

نگه داری و آماده سازی محلول ها

هر ویال Heamostica dRVV Screen را با ۱ میلی لیتر آب مقطر آب کنید.

هر ویال Heamostica dRVV Confirm را با ۱ میلی لیتر آب مقطر آب کنید. پس از اضافه کردن آب مقطر ویال را به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق (۱۸ تا ۲۵ درجه سانتیگراد) قرار دهید. ویال را به آرامی بچرخانید تا یک سوسپانسیون همگن به دست آید و درپوش پلاستیکی را روی ویال قرار دهید.

ذخیره سازی محلول ها

ویال های دست نخورده تا تاریخ انقضای درج شده بر روی برچسب جعبه، تا زمانی که در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد نگهداری شوند، پایدار هستند.

معرف آب شده به مدت ۳ روز در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد و ۲۴ ساعت در دمای ۱۵ تا ۳۰ درجه سانتیگراد پایدار است. معرف باید به سرعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد ذوب شود. معرف را دوباره فریز نکنید.

با توجه به شرایط متعدد نگهداری، هر آزمایشگاه باید مدت زمان پایداری خود را با توجه به عملکرد خود تعیین کند. این زمان ها نباید از ارقام ذکر شده در بالا که تحت شرایط کنترل شده تعیین شده اند تجاوز کند.

در صورت نگهداری در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد، قبل از استفاده، اجازه دهید معرف به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق (۱۸ تا ۲۵ درجه سانتیگراد) بماند.

مواد و تجهیزاتی که مورد نیاز هستند ولی در کیت موجود نیستند

- کنترل LA: پلاسماهای کنترل، پلاسماهای LA منفی و مثبت.
- دستگاه کواگولومتر در روش اتوماتیک و نیمه اتوماتیک و بن ماری در روش دستی
- سمپلر برای روش دستی و نیمه اتوماتیک
- دستکش و نوک سمپلر
- کورنومتر در روش دستی

شرایط جمع آوری و پایداری نمونه

خونگیری برای تست های انعقادی باید در لوله های حاوی ضد انعقاد سیترا سدیم ۳.۲٪ انجام شود. نسبت خون به ضد انعقاد ۹ به ۱ باید باشد.

از نمونه ی همراه با EDTA، هپارین، و اکزالات استفاده نشود.

پلاسماهای مورد استفاده پلاسماهای فقیر از پلاکت (PPP) است که برای تهیه ی آن نیاز به سانتریفیوژ

به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۲۰۰۰ g می باشد. تعداد پلاکت ها باید کمتر از ۱۰۰۰۰ باشد

پلاسما به مدت ۴ ساعت در دمای اتاق و دو هفته در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد قابل نگه داری است.

از نمونه های کدر، ایکتریک و لیپمیک و یا همولیز استفاده نکنید.

نمونه هایی که کمتر از ۹۰ درصد حجم مورد انتظار در لوله های نمونه گیری پر شده اند قابل قبول نمی باشند.

بلافاصله پس از خونگیری با سر و ته کردن لوله، خون با ماده ی ضد انعقاد مخلوط شود.

انجماد و ذوب پلاسماهای حاوی سلولهای باقیمانده باعث ایجاد غشای سلولی آسیب دیده می شود و نتایج را تحت تأثیر قرار می دهد.

روش انجام آزمایش

این تست به صورت دستی یا توسط سیستم های انعقادی نیمه اتوماتیک قابل انجام می باشد. پلاسماهای بیمارمان به صورت رقیق نشده آزمایش می شود.

پس از سانتریفیوژ و تهیه ی پلاسماهای فقیر از پلاکت، جهت انجام آزمایش، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر پلاسماهای بیمار را به لوله ی آزمایش اضافه می کنیم و ۳ دقیقه در دمای ۳۷ درجه انکوبه می کنیم. سپس ۱۰۰ میکرولیتر معرف dRVV اضافه کرده و کورنومتر را استارت میزنیم. زمان لازم برای ایجاد لخته به عنوان نتیجه ی dRVV ثبت می شود.

نتایج

نتیجه ی DRVVT Screen به صورت Screen Ratio گزارش می شود که به شکل زیر محاسبه می شود.

$$\text{Screen Ratio} = \frac{\text{Screen CT (s) of the patient plasma}}{\text{Screen CT (s) of the reference pool}}$$

زمانی که Screen Ratio بیمار کمتر از ۱۱۲ باشد، نتیجه نرمال است ولی اگر این مقدار بالاتر از ۱۱۲ باشد، نتیجه غیرطبیعی است و احتمال وجود LA مطرح می شود و باید از تست DRVVT Confirm جهت تایید نهایی استفاده کرد. نتیجه ی DRVVT Confirm نیز همانند تست DRVVT Screen به صورت Confirm Ratio گزارش می شود که به شکل زیر محاسبه می شود..

$$\text{Confirm Ratio} = \frac{\text{confirm CT (s) of the patient plasma}}{\text{confirm CT (s) of the reference pool}}$$

پس از محاسبه ی موارد فوق، نسبت نرمالیزه شده طبق فرمول زیر به دست می آید.

$$\text{Normalized Ratio} = \frac{\text{Screen Ratio}}{\text{Confirm Ratio}}$$

اگر Normalized Ratio بیمار مساوی یا بیشتر از ۱۱۲ باشد وجود LA ثابت می شود. البته توجه شود که در سندرم آنتی فسفولیپید (APS)، آزمایش LA باید در تکرار آزمایش بر روی

علائم مورد استفاده در لیبل

مورد استفاده در آزمایشگاه تشخیص پزشکی	IVD
به دفترچه ی (احتمالاً مراجعه کنید)	
در دمای یو تا ۸ درجه که داری شود	
معرف حاوی سدیم آزاید است	CONT NaN ₃
اوس تولید کننده	
تاریخ انقضا	
لات نامبر	
خور از رطوبت نگه داری شود	
تاریخ تولید	
نماد تست قابل اتمام توسط کیت	Σ

منابع

1. THIAGARAJAN P., PENGU V., SHAPIRO S.S.: “The use of the dilute Russell viper venom time for the diagnosis of lupus anticoagulants”. Blood, 68, 4, 869-874, 1986.
2. TRIPLETT D.A., BARNA L.K., UNGER G.A.: “A hexagonal (II) phase phospholipid neutralization assay for lupus anticoagulant identification”. Thromb. Haemostasis, 70, 5, 787-793, 1993.
3. BRANDT J.T., TRIPLETT D.A., ALVING B., SCHARRE I.: “Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update”. Thromb. Haemostasis, 84, 4, 1185-1190, 1995.
4. ARNOUX D., BOUTIERE B., SANMARCO M.: “Les anticorps “antiphospholipides” : intérêt clinique et diagnostic biologique”. Ann. Biol. Clin., 58, 5, 557-574, 2000.
5. GALLI M., DLOTT J., NORBIS F., RUGGERI L., CLER L., TRIPLETT D.A., BARBUI T.: “Lupus anticoagulants and thrombosis: clinical association of different coagulation and immunologic tests”. Thromb. Haemostasis, 84, 1012- 1016, 2000.
6. GREAVES M., COHEN H., MACHIN S.J., MACKIE I.: “Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome”. Br. J. Haematology, 109, 4, 704-715, 2000.

در صورت بروز هر گونه مشکل با شماره تلفن مندرج بر روی جعبه، بخش پشتیبانی فنی تماس بگیرید

کار با معرفهای آزمایشگاهی رعایت کردن اقدامات احتیاط مورد نیاز ضروری می باشد .
در صورت شکسته بودن ویال، کیت قابل استفاده نیست.
از الوده کردن معرف ها خودداری کنید.
از سرمپیلر های یک بار مصرف استفاده کنید.
این معرف ها غیر قابل خوردن و نوشیدن هستند در مورد چگونگی دور ریختن مواد از قوانین تدوین شده عمل شود.
معرف های حاوی سدیم آزاید باید با احتیاط دور ریخته شوند تا از ایجاد آزایدهای فلزی قابل انفجار جلوگیری شود. اگر مواد زائد در سینک ها ریخته می شود، از مقدار زیادی آب برای شستشو استفاده کنید.

ویژگی های عملکردی

محدوده ی مرجع

LA در پلاسمای نرمال وجود ندارد و در نتیجه در افراد نرمال باید نسبت Screen Ratio کمتر از ۱٫۲ باشد. به عنوان مثال ۴۰ فرد نرمال با کیت Heamostica dRVVT مورد تست قرار گرفتند که Screen Ratio برای همه پایین تر از ۱٫۲ بود. همچنین محدوده ی نرمال برای کیت Heamostica dRVVT Screen برابر ۲۹٫۴ تا ۳۴٫۲ و برای Heamostica dRVVT Confirm برابر ۳۷٫۲ تا ۳۲٫۳ است.

حساسیت

کیت های Heamostica dRVV حساسیت خوبی در تشخیص پلاسماهای LA مثبت داشته اند. جهت ارزیابی حساسیت بالینی، ۴۰ نمونه ی پلاسما با LA تایید شده با هر دو کیت آزمایش شدند و هر ۴۰ پلاسما $\geq$ normalized ratio داشتند.

دقت

برای ارزیابی تکرارپذیری intra-assay و inter-assay و Reproducibility کیت Heamostica dRVV Confirm و Heamostica dRVV Screen نمونه های کنترل تجاری نرمال، کنترل تجاری غیر نرمال، نمونه ی بالینی نرمال و نمونه ی بالینی غیر نرمال مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به شرح زیر بود :

dRVVT Screen Repeatability					
		Control		Human Normal Plasma	
		Normal	Abnormal	Normal	Abnormal
Intraassay N= 80	Mean	33.4875	43.47625	33.4025316	48.5725
	SD	0.39180691	0.58897976	0.40603609	0.60252107
	CV%	1.17000945	1.35471609	1.21558477	1.2404572
Inter assay N=80	Mean	33.40625	47.4975	34.5875	53.4875
	SD	0.42496277	0.63803	0.62690217	0.64186733
	CV%	1.27210557	1.34329175	1.81251079	1.2000324
Reproducibility N=75	Mean	33.7066667	47.824	33.66	53.6613333
	SD	0.55442528	0.65053824	0.55774643	0.72090284
	CV%	1.64485347	1.36027567	1.65700069	1.34343072

dRVVT Confirm Repeatability					
		Control		Human Normal Plasma	
		Normal	Abnormal	Normal	Abnormal
Intraassay N= 80	Mean	33.4875	43.47625	33.4025316	48.5725
	SD	0.39180691	0.58897976	0.40603609	0.60252107
	CV%	1.17000945	1.35471609	1.21558477	1.2404572
Inter assay N=80	Mean	33.40625	47.4975	34.5875	53.4875
	SD	0.42496277	0.63803	0.62690217	0.64186733
	CV%	1.27210557	1.34329175	1.81251079	1.2000324
Reproducibility N=75	Mean	33.7066667	47.824	33.66	53.6613333
	SD	0.55442528	0.65053824	0.55774643	0.72090284
	CV%	1.64485347	1.36027567	1.65700069	1.34343072

یک نمونه ی مجزا با فاصله حداقل ۱۲ هفته از تست اول مثبت باشد (V) و در نهایت نتیجه با توجه به وضعیت بالینی بیمار تفسیر شود (۳).

تعیین محدوده مرجع

هر آزمایشگاه باید محدوده نرمال خود را تعیین کند. برای تعیین محدوده مرجع Heamostica dRVV Screen و dRVV Confirm Heamostica، حداقل ۴۰ نمونه پلاسمای طبیعی باید آزمایش شود (۶).

نتیجه DRVVT مجموعه ای از حداقل ۶ پلاسمای طبیعی (Reference Pool) که در این محدوده ها می باشد، در هر ران کاری باید برای محاسبه نسبت های Screen Ratio و یا Confirm Ratio استفاده شود (۷).

کنترل کیفی

در هر ران کاری از نمونه ی کنترل نرمال و کنترل مثبت LA استفاده کنید تا از عملکرد صحیح کیت مطمئن شوید.

در صورتی که نتایج هر یک از کنترل ها در محدوده ی مورد نظر نبود، تمام اجزای آزمایش از قبیل سمپلر ها، بن ماری و کورنومتر بررسی شود و مجدد تست انجام شود اگر همچنان نتایج خارج از محدوده ی مورد نظر بود از یک معرف دیگر استفاده کنید.
آزمایشگاه باید هر گونه عدم انطباق در نتیجه را به بخش پشتیبانی شرکت اطلاع دهد.

اهمیت بالینی

اگر Normalized Ratio بیمار مساوی یا بیشتر از ۱٫۲ باشد وجود ضد انعقاد لوپوسی ثابت می شود.

محدودیت ها

جهت تایید هر دو تست Heamostica dRVV و Heamostica dRVV Screen Confirm باید در یک زمان و روی یک نمونه انجام شوند.

انجماد و ذوب پلاسمای حاوی سلول های باقیمانده باعث ایجاد غشای سلولی آسیب دیده می شود و نتایج را تحت تأثیر قرار می دهد.

مواد مداخله کننده

تست LA برای نمونه های بیماران دریافت کننده هپارین (هپارین شکسته نشده و/یا با وزن مولکولی کم) توصیه نمی شود (۴). با این حال کیت های dRVVT Screen و dRVVT Confirm Heamostica تحت تأثیر مواد زیر با غلظت های مشخص شده قرار نمی گیرند:

Heamostica dRVV Screen									
میزان	آنتی کوانتین	آنتی کوانتین	آنتی کوانتین	آنتی کوانتین	آنتی کوانتین	آنتی کوانتین	آنتی کوانتین	آنتی کوانتین	آنتی کوانتین
Up to 1.0mg/dl	Up to 1.0mg/dl	Up to 1.0mg/dl	Up to 1.0mg/dl	Up to 1.0mg/dl	Up to 1.0mg/dl	Up to 1.0mg/dl	Up to 1.0mg/dl	Up to 1.0mg/dl	Up to 1.0mg/dl

Heamostica dRVV Confirm									
میزان	آنتی کوانتین	آنتی کوانتین	آنتی کوانتین	آنتی کوانتین	آنتی کوانتین	آنتی کوانتین	آنتی کوانتین	آنتی کوانتین	آنتی کوانتین
Up to 1.0mg/dl	Up to 1.0mg/dl	Up to 1.0mg/dl	Up to 1.0mg/dl	Up to 1.0mg/dl	Up to 1.0mg/dl	Up to 1.0mg/dl	Up to 1.0mg/dl	Up to 1.0mg/dl	Up to 1.0mg/dl

ایمنی و دفع پسماند

این کیت صرفاً برای استفاده توسط پرسنل واجد شرایط آزمایشگاه طراحی شده است در هنگام