

بروشور Heamostica AT III kit

شماره بروشور	SA10	REF
--------------	------	-----

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

موارد استفاده

آزمایش آنتی ترومبین AT III (AT III) یک آزمایش اولیه برای ارزیابی بیماران مشکوک به کمبود مادرزادی AT III، از جمله افرادی است که سابقه شخصی یا خانوادگی عوارض ترومبوتیک دارند. این کیت برای اندازه گیری کمی سطح فعالیت AT III در پلاسما مورد استفاده قرار می گیرد (۱).

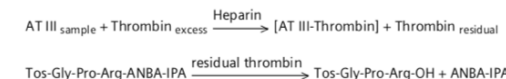
مقدمه

AT III یک گلیکوپروتئین با وزن مولکولی تقریباً ۵۸۰۰۰ دالتون است که در کبد سنتز می شود و با واسطه ی فعالیت سرین پروتئازی خود، به عنوان مهارکننده ترومبین و فاکتور Xa و به میزان کمتری فاکتورهای IXa، Xla، و XIIa عمل می کند (۱). فعالیت AT به طور چشمگیری توسط هیپارین افزایش می یابد و از طرف دیگر وجود AT III جهت عملکرد درمانی داروی هیپارین ضروری است (۱، ۲، ۳). کمبود AT III با افزایش ریسک وقایع ترومبوآمبولیک همراه است (۴). کمبود AT III می تواند به صورت ارثی یا اکتسابی رخ بدهد. کمبود اکتسابی AT III در بیماری های شدید کبدی، انعقاد منتشر داخل عروقی (DIC)، سپسیس، سندروم نفروتیک، درمان با آسپاریناز و برخی بدخیمی ها مشاهده می شود (۵، ۶، ۷).

اصول آزمایش

در این آزمایش ابتدا پلاسما مورد آزمایش با مقادیر مشخص ترومبین (در حضور هیپارین) انکوبه می شود که در نتیجه AT III با مقداری از ترومبین موجود واکنش داده و خنثی می شود. در ادامه ترومبین باقی مانده با عمل روی سوبسترای کروموزنیک، یک ماده ی رنگی ایجاد می کند که میزان رنگ ایجاد شده در طول موج ۴۰۵ نانومتر اندازه گیری می شود. میزان AT III بیمار با میزان ترومبینی که در مرحله ی اول آزمایش خنثی می شود رابطه ی مستقیم دارد و بنابراین میزان ترومبین واکنش دهنده در مرحله ی دوم و در نتیجه میزان رنگ ایجاد شده رابطه ی عکس با غلظت آنتی ترومبین دارد. در شکل زیر اصول آزمایش Heamostica AT III را مشاهده می کنید

این روش تحت تأثیر دوزهای درمانی هیپارین قرار نمی گیرد و بنابراین برای اندازه گیری AT III در بیمارانی که هیپارین درمانی دریافت می کنند، مناسب است.



محتویات کیت

۶ عدد معرف شماره یک که حاوی ۵ میلی لیتر ترومبین به صورت لئوفیلیزه است.
۶ عدد معرف شماره دو که سوبسترای کروموزنیک ترومبین است.
۶ عدد معرف شماره سه که حاوی ۵ میلی لیتر حلال ترومبین به صورت مایع است.

احتیاط

- لطفا تمام اطلاعات بروشور را قبل از انجام تست بخوانید.
- این تست فقط برای استفاده in vitro می باشد. بعد از رویت تاریخ مصرف استفاده کنید.
- در محل انجام آزمایش از خوردن، آشامیدن و سیگار کشیدن خودداری نمایید.
- کیت در دمای ۲-۸ درجه سانتی گراد نگهداری شود. این معرف ها فقط باید توسط پرسنل آزمایشگاه پزشکی استفاده شوند. قبل از استفاده، از روش کار دستگاه کاملاً آگاهی داشته باشید.
- در برخورد با این معرف ها و نمونه های بیمار دقت زیادی به خرج دهید. دفع مواد زائد باید مطابق مقررات محلی انجام شود.

شرایط جمع آوری و پایداری نمونه

- خونگیری برای تست های انعقادی باید در لوله های حاوی ضد انعقاد سیترات سدیم ۳.۲٪ انجام شود. نسبت خون به ضد انعقاد ۹ به ۱ باید باشد.
- توجه:** از پلاسما دارای ضد انعقاد EDTA، هیپارین، و اگزالات استفاده نشود. پلاسما مورد استفاده پلاسما فقیر از پلاکت (PPP) (سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۳۰۰۰ تا ۲۵۰۰ g) است. تعداد پلاکت ها باید کمتر از ۱۰۰۰۰ باشد.
- پلاسما به مدت ۴ ساعت در دمای اتاق، ۲۴ ساعت در دمای ۲-۸ درجه سانتیگراد و دو هفته در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد قابل نگه داری است.

نگه داری و آماده سازی محلول ها

- محلول شماره ۳ را به خوبی تکان دهید و به طور کامل به معرف شماره ۱ اضافه کنید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار دهید. سپس به آرامی معرف آب شده را هم بزیند تا یکنواخت شود.
- به محلول شماره ۲ مقدار ۳ میلی لیتر آب مقطر اضافه کنید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار دهید. سپس به آرامی معرف آب شده را هم بزیند تا یکنواخت شود.

معرف ها تا پایان تاریخ انقضای خود در دمای ۲ تا ۸ درجه پایداری هستند. کیت پس از آب شدن در صورت نگه داری در دمای ۲ تا ۸ درجه تا ۱۲ روز قابل استفاده است. پس از خروج معرف آب شده از یخچال، معرف را به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگه داری کنید و سپس تست ها را انجام دهید.

لوازم مورد نیاز که در کیت موجود نیست

محلول اورن کالر (Owren-Koller)، دستگاه کواگولومتر، کالیبراتور، کنترل های نرمال و پاتوژن

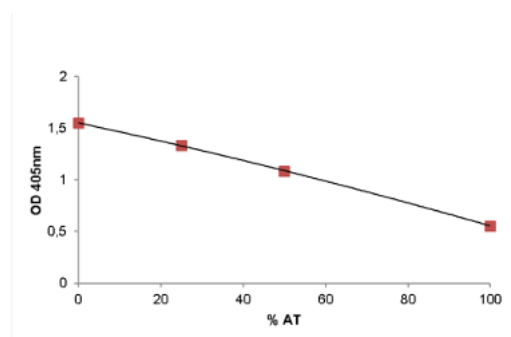
روش انجام آزمایش

این تست توسط دستگاه کواگولومتر قابل انجام می باشد. جهت دسترسی به جزئیات کامل در مورد چگونگی انجام تست، به "روش های عملیاتی استاندارد" دستگاه کواگولومتر مراجعه کنید. سنجش AT III پلاسماهای مورد آزمایش به محض بارگیری نمونه ها به طور خودکار توسط آنالایزر در طول موج ۴۰۵ نانومتر انجام می شود. اگر هر

یک از نتایج خارج از محدوده سنجش قرار گیرد، دستگاه به طور خودکار نمونه مورد نظر را با رقت مناسب مجدداً آزمایش می کند. دستگاه به این منظور، پلاسماهای رفرنس (استاندارد) و معرف ترومبین را میکس می کند و پس از ۵ دقیقه سوبسترا را اضافه می کند و پس از ۱۵ ثانیه میزان جذب نوری را در طول موج ۴۰۵ نانومتر اندازه گیری می کند. سپس در دو نقطه ی ۶۰ ثانیه و ۱۲۰ ثانیه، میزان جذب را اندازه گیری می کند. میزان AT III بیمار با میزان ترومبینی که در مرحله ی اول آزمایش خنثی می شود رابطه ی مستقیم دارد و بنابراین میزان ترومبین واکنش دهنده در مرحله ی دوم و در نتیجه میزان رنگ ایجاد شده رابطه ی عکس با غلظت آنتی ترومبین دارد. برای محاسبه مقدار آنتی ترومبین، ابتدا با استفاده از پلاسماهای استاندارد یا پلاسماهای کالیبراتور رقت های زیر تهیه شده و با استفاده از نتایج این نمونه ها، منحنی استاندارد را رسم می شود.

غلظت ۰ درصد	غلظت ۲۵ درصد	غلظت ۵۰ درصد	غلظت ۱۰۰ درصد	غلظت نمونه
۰ μL	۵۰ μL	۱۰۰ μL	۲۰۰ μL	حجم کالیبراتور
۳۰۰ μL	۱۵۰ μL	۱۰۰ μL	۰	حجم بافر

سپس منحنی کالیبراسیون مشابه زیر رسم می شود.



در ادامه نمونه های بیماران مورد آزمایش قرار می گیرد و با استفاده از OD به دست آمده و منحنی استاندارد، غلظت نمونه مشخص می شود.

کنترل کیفی

در هر ران کاری از نمونه ی کنترل نرمال و کنترل بالا 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 را بررسی شود و مجدد تست انجام شود اگر همچنان نتایج خارج از محدوده ی مورد نظر بود از یک معرف دیگر استفاده کنید

نتایج و مقادیر مورد انتظار

نتیجه ی تست به صورت سطح AT III (درصد) گزارش می شود و نتایج باید با توجه به وضعیت بالینی بیمار تفسیر شود. نتیجه ی تست ۱۲۰ فرد نرمال با کیت Heamostica AT III نشان دهنده ی محدوده ی مرجع ۸۰ تا ۱۳۰ درصد بود. مقادیر مورد انتظار برای افراد سالم بسته به تکنیک مورد استفاده از آزمایشگاهی به آزمایشگاه دیگر متفاوت است. بنابراین، هر آزمایشگاه باید مقادیر مورد انتظار خود را برای جمعیت بیمار خاص خود بر اساس تکنیک و ابزار مورد استفاده تعیین کند.

- 5- Fourrier F, Chopin C, Goudemand J, Hendrycx S, Caron C, Rime A, Marey A, Lestavel P. Septic Shock, Multiorgan Failure, and Disseminated Intravascular Coagulation. Compared Patterns of Antithrombin III, Protein C and Protein S Deficiencies, Chest. 1993; 101: 816-823.

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

علائم به کار رفته در لیبل

مورد استفاده در آزمایشگاه تشخیص پزشکی	IVD
به دفترچه ی راهنما مراجعه کنید.	
در دمای دو تا ۸ درجه نگه داری شود.	
معرف حاوی سدیم آزاید است.	CONT NaN ₃
آدرس تولید کننده	
تاریخ انقضا	
لات نامبر	LOT
دور از رطوبت نگه داری شود.	
تاریخ تولید	
تعداد تست قابل انجام توسط کیت	Σ

منابع

- 1- Wells PS, Blajchman MA, Henderson P. The prevalence of Antithrombin Deficiency in Healthy Blood Donors. A Cross-Sectional Study, Am. J. Hematol. 1994; 4: 321-324.
- 2- CLSI. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays. Approved Guideline – Fifth Edition. CLSI document H21-A5 [ISBN 1-56238-657-3]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2008.
- 3- Pabinger I, Brucker S, Kyrle PA. Hereditary Deficiency of Antithrombin III, Protein C and ProteinS. Prevalence in Patients with a History of Venous Thrombosis and Criteria for Rational Patient Screening, Blood Coag. Fibrinolys. 1992; 3: 547-553.
- 4- Friberger P, Egberg N, Holmer E, et al. Antithrombin assay - the use of human or bovine thrombin and the observation of a „second“ heparin cofactor. Thromb Res. 1982; 25: 433-

محدودیت ها و تداخلات

آنالیت های زیر تا مقادیر مشخص شده تداخلی در تست انجام شده با Heamostica AT III ندارند:

- بیلی روبین تا سطح ۲۱ mg/dl
- هموگلوبین آزاد پلاسما تا سطح ۲۱۰ mg/dl
- کلسترول تا غلظت ۳۵۰ mg/dl
- تری گلیسرید تا سطح ۴۱۰ mg/dl

ایمنی و دفع پسماند

این کیت صرفاً برای استفاده توسط پرسنل واجد شرایط آزمایشگاه طراحی شده است در هنگام کار با معرفهای آزمایشگاهی رعایت کردن اقدامات احتیاط مورد نیاز ضروری میباشد. در صورت شکسته بودن ویال، کیت قابل استفاده نیست. از آلوده کردن معرف ها خودداری کنید. این معرف ها غیر قابل خوردن و نوشیدن هستند. در مورد چگونگی دور ریختن مواد از قوانین تدوین شده عمل شود.

ویژگی های عملکردی

تکرارپذیری

نمونه های کنترل تجاری نرمال، کنترل تجاری غیر نرمال، نمونه ی بالینی نرمال و نمونه بالینی غیر نرمال برای مطالعات تکرارپذیری intra-assay (۸۰ تکرار) و inter-assay (۸۰ تکرار) استفاده شد. نتایج به دست آمده در زیر نشان داده شده است:

Intra assay				
نتایج ارزیابی با استفاده از نمونه بالینی نرمال	نتایج ارزیابی با استفاده از نمونه بالینی غیر نرمال	نتایج ارزیابی با استفاده از کنترل تجاری نرمال	نتایج ارزیابی با استفاده از کنترل تجاری غیر نرمال	نتایج ارزیابی با استفاده از کنترل تجاری نرمال
Mean	112.4125	35.8625	104.8375	35.3544304
SD	3.67231776	1.43856249	2.1608938	1.71746664
CV%	3.26882331	4.01132795	2.06118403	4.85785408
Inter assay				
نتایج ارزیابی با استفاده از نمونه بالینی نرمال	نتایج ارزیابی با استفاده از نمونه بالینی غیر نرمال	نتایج ارزیابی با استفاده از کنترل تجاری نرمال	نتایج ارزیابی با استفاده از کنترل تجاری غیر نرمال	نتایج ارزیابی با استفاده از کنترل تجاری نرمال
Mean	111	34.5	104.8875	34.6625
SD	3.09756948	1.35010548	2.88599302	1.46644969
CV%	2.79060314	3.91334922	2.75151283	4.23065182

همبستگی با کیت مرجع

در ارزیابی همبستگی نتایج بین کیت حاضر با کیت ATIII شرکت stago بر روی ۱۰۰ فرد نرمال و اینرمال نتایج زیر به دست آمد:

	ATIII Correlation
Heamostica ATIII vs Stago ATIII N= 100	y = 0.9998x - 0.4869 R ² = 0.9905