



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0023858

(51)⁷ G01N 33/86

(13) B

(21) 1-2014-00091

(22) 15/06/2012

(86) PCT/JP2012/065434 15/06/2012

(87) WO2012/173260 20/12/2012

(30) 2011-135174 17/06/2011 JP

(45) 25/05/2020 386

(43) 25/03/2014 312A

(73) 1. SCHOOL JURIDICAL PERSON HIGASHI-NIPPON-GAKUEN (JP)

1757, Aza Kanazawa, Tobetsu-cho, Ishikari-gun, Hokkaido 0610293, Japan

2. SEKISUI MEDICAL CO., LTD. (JP)

13-5, Nihonbashi 3-chome, Chuo-ku, Tokyo 1030027, Japan

(72) IEKO, Masahiro (JP); MORIKAWA, Chizuru (JP); HATTORI, Keiko (JP)

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) PHƯƠNG PHÁP ĐO THỜI GIAN ĐÔNG MÁU ĐỂ PHÁT HIỆN CHẤT CHỐNG ĐÔNG MÁU LUPUT VÀ KIT PHẢN ỨNG ĐỂ ĐO THỜI GIAN ĐÔNG MÁU

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp đo thời gian đông máu, phương pháp này tạo khả năng phát hiện LA một cách dễ dàng và với độ nhạy cao khi được so sánh với phương pháp được đề xuất bởi ISTH, không bị ảnh hưởng bởi sự thiếu hụt của yếu tố làm đông máu thậm chí trong mẫu máu của người nhận warfarin, người bị thiếu hụt vitamin K, hoặc người bệnh bị suy gan. Sáng chế còn đề cập đến phương pháp đo thời gian đông máu để phát hiện chất chống đông máu luput, phương pháp này bao gồm việc bổ sung chế phẩm dung dịch đệm chứa yếu tố làm đông máu vào mẫu máu trước khi đo hoặc ở thời điểm đo thời gian đông máu, và đo thời gian đông máu.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp đo thời gian đông máu của mẫu máu được thử nghiệm đối với mục đích phát hiện chất chống đông máu luput.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Việc đo thời gian đông máu được tiến hành để kiểm tra về sự có mặt hoặc không có mặt của bất thường bất kỳ trong hệ thống đông máu, hoặc để đo hoạt tính của các yếu tố làm đông máu riêng, bằng cách đo khoảng thời gian bắt đầu từ thời điểm ở đó chất phản ứng để đo thời gian đông máu bao gồm tác nhân hoạt hóa đối với yếu tố làm đông máu (sau đây có thể là đơn giản là để chỉ tác nhân hoạt hóa) và/hoặc Ca^{2+} và tương tự được bổ sung vào mẫu máu hoặc hỗn hợp mẫu máu, đến thời điểm ở đó cục đông máu fibrin có thể phát hiện được được tạo ra (thời gian đông máu dưới đây có thể còn đơn giản là để chỉ thời gian đông). Ngoài ra, sự hình thành các cục máu đông fibrin có thể còn đơn giản là để chỉ đông máu). Ví dụ thông thường về các thử nghiệm đông máu bao gồm thời gian protrombin (PT), thời gian thromboplastin được hoạt hóa một phần (APTT), và thời gian thrombin. Trong phần mô tả dưới đây, yếu tố làm đông máu có thể là đơn giản được gọi là yếu tố đông máu.

PT là thời gian được lấy từ lúc bổ sung hỗn hợp chất lỏng của thromboplastin mô và Ca^{2+} vào huyết tương thử nghiệm, đến lúc xuất hiện đông máu, và điều này có khuynh hướng kiểm nghiệm toàn diện các hoạt tính đông máu của yếu tố VII, yếu tố X, yếu tố V, protrombin, fibrinogen, và tương tự mà đường như được kết hợp với con đường bên ngoài của quá trình đông máu. Hơn nữa, APTT là thời gian được lấy từ lúc bổ sung đủ lượng phospholipit và tác nhân hoạt hóa (kaolin, axit silixic khan, axit elagic, hoặc tương tự) và lượng thích hợp của Ca^{2+} vào huyết tương thử nghiệm, đến lúc xuất hiện đông máu, và điều này có khuynh hướng kiểm nghiệm toàn diện hoạt tính đông máu của yếu tố XII, yếu tố XI, prekallikrein, kininogen khối lượng phân tử cao, yếu tố IX, yếu tố VIII, yếu tố X, yếu tố V, protrombin, fibrinogen và tương tự, mà được kết hợp với con đường bên ngoài của quá trình đông máu. Nhìn chung, cái mà để chỉ bất thường trong các thử nghiệm đông máu này là để chỉ việc kéo dài thời gian

đông máu. Bất thường trong hệ thống đông máu phản ánh các dấu hiệu hoặc các kết quả của khuynh hướng xuất huyết hoặc khuynh hướng huyết khối (khuynh hướng đông máu) trong cơ thể.

Xét đến các nguyên nhân đối với việc kéo dài thời gian đông máu, dưới đây có thể được xem là các nguyên nhân: 1) sự thiếu hụt hoặc giảm các yếu tố làm đông máu, 2) sự có mặt của kháng thể cho thành phần máu mà tạo nên hệ thống đông máu, 3) sự có mặt của kháng thể cho thành phần trong chất phản ứng để đo thời gian đông máu, 4) sự có mặt của kháng thể cho phức của thành phần máu mà tạo nên hệ thống đông máu và thành phần trong chất phản ứng để đo thời gian đông máu, và 5) việc dùng thuốc mà ức chế phản ứng đông máu.

Tuy nhiên, đơn giản tiến hành việc đo thời gian đông máu không có khả năng phân biệt có phải hay không nguyên nhân kéo dài thời gian đông máu là, ví dụ, giảm về hoạt tính đông máu do sự thiếu hụt đơn giản của các yếu tố đông máu, hoặc giảm về hoạt tính đông máu do việc ức chế phản ứng đông máu bởi kháng thể (chất ức chế) cho thành phần mà tạo nên hệ thống đông máu hoặc thành phần trong chất phản ứng để đo thời gian đông máu. Mặt khác, do chính sách chữa bệnh biến thiên với sự khác biệt về nguyên nhân thích đáng của kéo dài, suy xét về nguyên nhân kéo dài là quan trọng. Do đó, có thử nghiệm điều chỉnh đông máu (sau đây còn có thể là để chỉ "thử nghiệm trộn" hoặc "thử nghiệm hỗn hợp") trong đó đối với mục đích xác định nguyên nhân kéo dài, huyết tương thông thường được bổ sung vào huyết tương thử nghiệm, và phạm vi mà thời gian đông máu của huyết tương thử nghiệm được điều chỉnh (được chuẩn hóa) được vẽ đồ thị để xác định nguyên nhân (Tài liệu phi sáng chế 1; Tài liệu sáng chế số US 4877741).

Thông thường, thử nghiệm hỗn hợp được tiến hành, ví dụ, theo cách được mô tả dưới đây.

Chuẩn bị các mẫu bằng cách bổ sung và trộn huyết tương thông thường vào huyết tương thử nghiệm sao cho tỷ lệ trộn của huyết tương thông thường là 0%, 20%, 50%, 80% và 100%, và đo APTT. Các kết quả được vẽ đồ thị (trục nằm ngang: tỷ lệ của huyết tương thông thường được kết hợp hoặc tỷ lệ (%) của huyết tương thử nghiệm, trục thẳng đứng: thời gian đông máu (giây)), và nguyên nhân kéo dài thời

gian đông máu được phân biệt bằng mắt nhìn và được xác định từ hình dạng đồ thị. Ví dụ, khi huyết tương thử nghiệm là thiếu hụt yếu tố đông máu, việc bổ sung lượng nhỏ huyết tương thông thường (20% trên FIG.1(A)) rút ngắn rõ rệt thời gian đông máu do vậy mà thời gian đông máu tiến gần đến giá trị có thể thu được khi đo huyết tương thông thường 100%. Do đó, đồ thị cho thấy đường cong xuống dưới đường thẳng (đường chấm chấm) mà nối các điểm tương ứng với 100% huyết tương thử nghiệm và 100% huyết tương thông thường (FIG.1(A)).

Khi chất ức chế yếu tố đông máu có mặt trong huyết tương thử nghiệm, chất ức chế yếu tố đông máu thích đáng làm bất hoạt các yếu tố đông máu trong huyết tương thông thường được bổ sung, mặc dù tăng tỷ lệ của bổ sung huyết tương thông thường. Do đó, mức độ cải thiện về thời gian đông máu do việc bổ sung huyết tương thông thường là thấp, và đường cong mà là lồi lên trên đường thẳng được thể hiện (FIG.1(B)).

Chất chống đông máu luput (sau đây gọi là LA) đã được biết đến làm chất ức chế yếu tố đông máu mà ảnh hưởng đến độ nhạy của chất phản ứng để đo thời gian đông máu. LA được xác định là globulin miễn dịch mà ức chế phản ứng đông máu phụ thuộc phospholipit *in vitro* không ức chế hoạt tính của các yếu tố đông máu riêng, và không phải là kháng thể đơn. Do sự có mặt của phospholipit là cần thiết cho phản ứng đông máu, thông thường, nhiều các chất phản ứng để đo thời gian đông máu là giàu về phospholipit. LA phản ứng với phospholipit trong các chất phản ứng, do đó tiêu thụ các phospholipit này, và sau đó ức chế phản ứng đông máu để kéo dài thời gian đông máu. Do đó, các kết quả của các thử nghiệm đông máu như là PT và APTT thường được tìm ra là bất thường. Tuy nhiên, do LA biến thiên trong phản ứng, cường độ dựa vào dạng phospholipit (dạng nguyên gốc, phospholipit chế phẩm, và tương tự), được biết rằng các kết quả khác nhau để xác định về dương tính/âm tính LA thu được dựa trên chất phản ứng để đo thời gian đông máu được sử dụng.

Tài liệu trong kỹ thuật hiện nay

Tài liệu phi sáng chế

Tài liệu phi sáng chế 1: *Kensa to Gijutsu*. (Examination and Technology), Vol. 34, no. 8, August 2006, p. 735-742

Tài liệu phi sáng chế 2: Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection, Journal of Thrombosis and Haemostasis, 7: pp. 1737-1740, 2009

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề được giải quyết bởi sáng chế

Xét đến liệu pháp dùng chất chống đông máu, heparin mà cho hiệu quả và có thể được sử dụng theo cách dùng vào tĩnh mạch ở thời điểm khẩn cấp, và warfarin mà là chất chống đông máu dùng qua đường miệng được sử dụng để ngăn ngừa dựa trên việc dùng trong thời gian dài. Giữa các chất này, warfarin được biết đến để ngăn chặn sinh tổng hợp trong gan của yếu tố II (protrombin), yếu tố VII, yếu tố IX và yếu tố X trong số các yếu tố làm đông máu bằng cách gây đối kháng tác dụng của vitamin K *in vivo*. Do đó, trong các trường hợp của những người nhận warfarin, những người bị thiếu hụt vitamin K, hoặc những người bệnh bị suy gan (những người bệnh là những người bị mắc xơ gan, bệnh gan bạo phát hoặc bệnh gan mạn tính, và tương tự), khi các phương pháp thông thường để nhận diện nguyên nhân kéo dài thời gian đông máu bằng thử nghiệm hỗn hợp được sử dụng, không được nhận diện rõ ràng có phải hay không việc kéo dài là việc kéo dài thời gian đông máu dựa trên kháng thể kháng phospholipid như là LA, hoặc việc kéo dài thời gian đông máu dựa trên tác dụng của warfarin, sự thiếu hụt của vitamin K, hoặc sự thiếu hụt của yếu tố làm đông máu dựa trên suy gan, và suy xét về nguyên nhân là khó khăn. Vấn đề này trở thành nghiêm trọng hơn trong trường hợp của những người bệnh, là những người dùng warfarin và là dương tính với LA. Bởi vì khi dương tính LA được xác định hoặc bị nghi ngờ, và liệu pháp chống đông máu này được bắt đầu, phát hiện LA, và việc giám sát và dấu vết của tăng và giảm LA là quan trọng, nhưng những liệu pháp này không thể được tiến hành xác đáng.

Hiệp hội Huyết khối và Cầm máu quốc tế (International Society on Thrombosis and Haemostasis - ISTH) đề xuất rằng, ở thời điểm phát hiện LA, việc đo được thực hiện sau khi huyết tương thử nghiệm được trộn với lượng tương xứng của huyết tương của người khỏe mạnh để bổ sung các yếu tố đông máu thiếu hụt bất kỳ. Ở đây, xét đến huyết tương của người khỏe mạnh do đó được sử dụng, huyết tương mà được đưa vào ly tâm kép sao cho số lượng tiểu cầu trong máu nhỏ hơn $10^7/\text{mL}$, và được tạo điều kiện

sao cho hoạt tính của tất cả các yếu tố làm đông máu dường như là 100%, được chuẩn bị trong nhà trong các phương tiện khác nhau và được sử dụng (Tài liệu phi sáng chế 2). Tuy nhiên, trong số các yếu tố làm đông máu, có các yếu tố mà có hoạt tính rất không ổn định và thiên về được bất hoạt. Do đó, rất khó chuẩn bị huyết tương của người khỏe mạnh này trong khi duy trì hoạt tính của tất cả các yếu tố làm đông máu hầu như là 100%, và có vấn đề là không dễ dàng đạt được ổn định cho nó. Hơn nữa, trong việc chuẩn bị huyết tương của người khỏe mạnh, do số lượng người mà huyết tương được bảo quản (trong bể) và được trộn tăng lên, các biến đổi của các cá nhân về hoạt tính của các yếu tố đông máu có thể được lấy trung bình. Tuy nhiên, số lượng cần thiết của người khỏe mạnh không thể được đảm bảo trong một số phương tiện, và sự sai lệch xuất hiện ở các nhà cung cấp huyết tương, có vấn đề là sự khác biệt về chất lượng sản phẩm có thể xuất hiện giữa các bể khác nhau. Hơn nữa, trong phương pháp có sử dụng huyết tương của người khỏe mạnh, không chỉ LA trong huyết tương thử nghiệm được pha loãng, mà cả các chất nền ức chế việc đo LA có mặt trong huyết tương của người khỏe mạnh (phospholipid, các màng được đập vỡ từ tiểu cầu, và tương tự) có thể được kết hợp. Đặc biệt là trong trường hợp khi mà LA là dương tính yếu, có vấn đề là có khả năng phát hiện rơi vào âm tính.

Do đó, có nhu cầu lớn đối với sự phát triển của phương pháp đo thời gian đông máu, trong đó thậm chí đối với những người nhận warfarin, là những người bị thiếu hụt vitamin K, hoặc những người bệnh suy gan, phát hiện LA có thể được tiến hành dễ dàng với độ nhạy cao khi được so sánh với phương pháp được đề xuất bởi ISTH như được mô tả trên đây, không bị ảnh hưởng bởi sự thiếu hụt của yếu tố làm đông máu.

Phương pháp giải quyết vấn đề

Các tác giả sáng chế đã tiến hành điều tra kỹ lưỡng, và kết quả các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng khi thời gian đông máu được đo sau khi yếu tố làm đông máu đặc hiệu được bổ sung vào mẫu để thử nghiệm (ví dụ, huyết tương), thời gian đông máu để phát hiện có thể được đo thuận tiện và nhạy, thậm chí nếu huyết tương của người khỏe mạnh không được sử dụng. Do đó, các tác giả sáng chế đã hoàn thiện sáng chế.

Cụ thể là, sáng chế đề xuất phương pháp đo thời gian đông máu để phát hiện LA, phương pháp này bao gồm việc bổ sung chế phẩm dung dịch đệm chứa các yếu tố làm đông máu vào mẫu máu trước khi đo hoặc ở thời điểm đo thời gian đông máu, và đo thời gian đông máu.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất việc sử dụng chất phản ứng bao gồm chế phẩm dung dịch đệm chứa yếu tố làm đông máu làm thành phần chính, mà chất phản ứng được sử dụng kết hợp với chất phản ứng để đo thời gian đông máu nhằm phát hiện chất chống đông máu luput.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất kit phản ứng để đo thời gian đông máu nhằm phát hiện chất chống đông máu luput, kit phản ứng này chứa (A) và (B) dưới đây:

(A) chất phản ứng để đo thời gian thromboplastin được hoạt hóa một phần hoặc chất phản ứng để đo thời gian pha loãng nọc độc rắn hổ lục của Russell; và

(B) chất phản ứng chứa chế phẩm dung dịch đệm có yếu tố làm đông máu làm thành phần chính.

Hiệu quả của sáng chế

Theo phương pháp của sáng chế, thậm chí trong trường hợp trong đó các yếu tố đông máu (FII, FVII, FIX và FX) phụ thuộc vitamin K là thiếu hụt, ví dụ, trong các mẫu máu được lấy từ những người nhận warfarin, là những người bị thiếu hụt vitamin K, hoặc những người bệnh suy gan (những người bệnh là những người mắc xơ gan, bệnh gan cấp tính hoặc bệnh gan mạn tính, và tương tự), sự có mặt hoặc không có mặt của LA có thể được kiểm tra thuận tiện và nhạy. Do đó, cách chữa bệnh đúng đối với những người bệnh với LA có thể được xác định. Hơn nữa, do không cần thiết chuẩn bị huyết tương của người khỏe mạnh, vấn đề là có sự khác biệt giữa các bể khác nhau của huyết tương người khỏe mạnh, đó là vấn đề ở đây, và vấn đề đạt được ổn định là khó, có thể cũng được giải quyết. Hơn nữa, điều đặc biệt được đề cập đối với phương pháp theo sáng chế đó là LA, đối với nó ở đây là khả năng được bỏ qua thậm chí bằng thử nghiệm hỗn hợp với huyết tương của người khỏe mạnh, có thể được phát hiện thuận tiện và nhạy. Đây là tác dụng hoàn toàn gây ngạc nhiên không ngờ trong ý tưởng đơn

giản là tiến hành bổ sung thông thường huyết tương thông thường bằng cách thay thế và bổ sung các thành phần huyết tương riêng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

FIG.1 là đồ thị mô hình minh họa các kết quả của thử nghiệm hỗn hợp theo phương pháp thông thường. FIG.1(A) thể hiện mẫu có sự thiếu hụt yếu tố đông máu; FIG.1(B) thể hiện mẫu của dạng chất ức chế có yếu tố đông máu; và FIG.1(C) thể hiện mẫu của trường hợp trong đó nguyên nhân kéo dài thời gian đông máu chưa được biết đến.

FIG.2 là đồ thị minh họa các kết quả của thử nghiệm hỗn hợp trong trường hợp sử dụng huyết tương A không được xử lý và huyết tương A được bổ sung huyết tương thông thường tương ứng làm các mẫu.

FIG.3 là đồ thị minh họa các kết quả của thử nghiệm hỗn hợp trong trường hợp sử dụng huyết tương B không được xử lý và huyết tương B được bổ sung huyết tương thông thường tương ứng làm các mẫu.

FIG.4 là đồ thị minh họa các kết quả của thử nghiệm hỗn hợp trong trường hợp sử dụng huyết tương A mà các chất phản ứng phụ trợ từ 1 đến 4 được bổ sung vào đó, làm các mẫu.

FIG.5 là đồ thị minh họa các kết quả của thử nghiệm hỗn hợp trong trường hợp sử dụng huyết tương B mà các chất phản ứng phụ trợ từ 1 đến 4 được bổ sung vào đó, làm các mẫu.

Mô tả chi tiết sáng chế

Phương pháp đo thời gian đông máu để phát hiện LA theo sáng chế được đặc trưng trong đó chế phẩm dung dịch đệm chứa yếu tố làm đông máu được bổ sung vào mẫu máu trước khi đo hoặc ở thời điểm đo thời gian đông máu.

Mẫu máu mà được sử dụng trong phương pháp theo sáng chế tốt hơn là máu toàn phần hoặc huyết tương, và thông thường, mẫu máu được chuẩn bị bằng cách bổ sung chất chống đông máu như là natri xitrat vào máu được gom từ đối tượng. Trong số các mẫu máu này, trong trường hợp liên quan đến các mẫu máu được lấy từ đối tượng mà đối với người đó phát hiện LA thông thường là khó khăn, thì phương pháp

theo sáng chế đặc biệt là hữu dụng. Các ví dụ về mẫu máu này bao gồm các mẫu máu được lấy từ những người nhận warfarin, là những người bị thiếu hụt vitamin K, và những người bệnh suy gan.

Xét đến phương cách đo thời gian đông máu, trong trường hợp này, chất phản ứng để đo thời gian đông máu, chất phản ứng phụ thuộc phospholipit bất kỳ hoặc phương cách đo cả để đo thời gian đông máu và thể hiện là nhạy với LA có thể được sử dụng, và chất phản ứng được biết đến bất kỳ để đo thời gian protrombin (PT), thời gian thromboplastin được hoạt hóa một phần (APTT), PT được pha loãng (dPT), APTT được pha loãng (dAPTT), thời gian tạo cục khối kaolin (KCT), thời gian pha loãng nọc độc rắn hồ lục của Russell (dRVVT) và tương tự có thể được sử dụng. Trong số các chất phản ứng này, ví dụ, các thành phần chính của chất phản ứng để đo thời gian protrombin (PT) là canxi và thromboplastin mô; các thành phần chính của chất phản ứng để đo thời gian thromboplastin được hoạt hóa một phần (APTT) là phospholipit, tác nhân hoạt hóa yếu tố tiếp xúc (phần mang điện âm như là kaolin, axit silixic khan, và axit elagic) và canxi; các thành phần chính của chất phản ứng để đo thời gian tạo cục khối kaolin (KCT) là kaolin và canxi; và các thành phần chính của chất phản ứng để đo thời gian pha loãng nọc độc rắn hồ lục của Russell (dRVVT) là nọc độc rắn hồ lục của Russell và phospholipit. Các thành phần này có thể được sử dụng làm các chất phản ứng độc lập thích đáng, hoặc làm các chất phản ứng hỗn hợp. Ngoài ra, đối với các chất phản ứng được mô tả trên đây, các sản phẩm có trên thị trường có thể được sử dụng trong tất cả các trường hợp. Ví dụ về các chất phản ứng để đo PT mà có trên thị trường bao gồm COAGPIA (nhãn hiệu hàng hóa đã được đăng ký) PT-S (là sản phẩm của SEKISUI MEDICAL CO., LTD.), THROMBOCHECK PT PLUS (là sản phẩm của Sysmex Corp.), và chất phản ứng STA Series PT (là sản phẩm của Roche Diagnostics GmbH). Các ví dụ về các chất phản ứng để đo APTT mà có trên thị trường bao gồm COAGPIA (nhãn hiệu hàng hóa đã được đăng ký) APTT-N (là sản phẩm của SEKISUI MEDICAL CO., LTD.), THROMBOCHECK APTT-SLA (là sản phẩm của Sysmex Corp.), chất phản ứng APTT Liquid RD và PTT LA "RD" (là sản phẩm của Roche Diagnostics GmbH). Các ví dụ về dạng chất phản ứng bao gồm dạng được làm khô mà hòa tan được ở thời điểm sử dụng, và dạng dung dịch.

Một hoặc nhiều chất phản ứng này và chế phẩm dung dịch đệm chứa các yếu tố làm đông máu (chất phản ứng phụ trợ) theo sáng chế cũng có thể được kết hợp vào trong kit.

Trong số các chất phản ứng để đo thời gian đông máu này, PT, APTT hoặc dRVVT được ưu tiên từ quan điểm về độ nhạy cho việc phát hiện LA. Hơn nữa, trong trường hợp đo PT hoặc APTT, tốt hơn là dùng thử nghiệm hỗn hợp sử dụng huyết tương thông thường và huyết tương thử nghiệm. Trong trường hợp đo dRVVT, thử nghiệm hỗn hợp không được tiến hành cụ thể.

Xét đến chế phẩm dung dịch đệm chứa yếu tố làm đông máu mà được sử dụng trong sáng chế, chế phẩm dung dịch đệm chứa ít nhất là một yếu tố trong số các yếu tố làm đông máu mà được xem là thiếu hụt trong mẫu máu được thử nghiệm có thể được sử dụng. Chế phẩm dung dịch đệm tốt hơn là chế phẩm dung dịch đệm chứa một dạng hoặc hai hoặc nhiều dạng được chọn từ FII, FVII, FVIII, FIX, FX, FXI và FXII, và tốt hơn nữa là chế phẩm dung dịch đệm chứa ít nhất là một dạng hoặc hai hoặc nhiều dạng được chọn từ FII, FVII, FIX, và FX. Hơn nữa, trong trường hợp đo PT, dung dịch đệm chứa một dạng hoặc hai hoặc nhiều dạng được chọn từ FII, FVII và FX được ưu tiên. Trong trường hợp đo APTT, chế phẩm dung dịch đệm chứa một dạng hoặc hai hoặc nhiều dạng được chọn từ FII, FVIII, FIX, FX, FXI, và FXII được ưu tiên, và đặc biệt là, chế phẩm dung dịch đệm chứa một dạng hoặc hai hoặc nhiều dạng được chọn từ FIX và FX được ưu tiên. Hơn nữa, trong trường hợp đo dRVVT, chế phẩm dung dịch đệm chứa một dạng hoặc hai hoặc nhiều dạng được chọn từ FII và FX được ưu tiên. Trong trường hợp mà khi chế phẩm dung dịch đệm theo sáng chế được bổ sung vào mẫu thử nghiệm, mẫu được pha loãng bằng chế phẩm dung dịch đệm, và nồng độ yếu tố làm đông máu trong mẫu giảm do đó mà ảnh hưởng đến thời gian đông máu, các yếu tố làm đông máu cần thiết được bổ sung theo chất phản ứng được sử dụng có thể được kết hợp vào trong chế phẩm dung dịch đệm được mô tả trên đây. Ví dụ, FVIII, FXI, và FXII có thể được kết hợp đối với APTT, dAPTT, và KCT; FVII có thể được kết hợp đối với PT; và FX có thể được kết hợp đối với dRVVT.

Ở đây, dung dịch đệm được biết đến như là dung dịch đệm tốt như HEPES có thể được ưu tiên sử dụng làm dung dịch đệm. Độ pH của dung dịch đệm có thể là giá

trị pH bất kỳ mà không làm bất hoạt yếu tố làm đông máu có mặt trong chế phẩm dung dịch đệm, và độ pH tốt hơn là có giá trị nằm trong khoảng từ 6 đến 9, và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 6,5 đến 8,0. Hơn nữa, nồng độ của dung dịch đệm có thể là nồng độ bất kỳ với điều kiện là duy trì được khả năng đệm trong quá trình bảo quản, và nồng độ tốt hơn là nằm trong khoảng từ 5mM đến 100mM, và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 5mM đến 50mM.

Nồng độ của các yếu tố làm đông máu trong chế phẩm dung dịch đệm tốt hơn là trong khoảng giá trị từ 0,01U/mL đến 10U/mL, và tốt hơn nữa là trong khoảng giá trị từ 0,1U/mL đến 5U/mL làm nồng độ của yếu tố làm đông máu sau khi chế phẩm dung dịch đệm được bổ sung vào mẫu máu. Tỷ lệ trộn của mẫu máu và chế phẩm dung dịch đệm có thể là ưu tiên được cài đặt khi cân nhắc nồng độ của yếu tố làm đông máu trong chế phẩm dung dịch đệm. Tỷ lệ pha loãng của mẫu máu bằng chế phẩm dung dịch đệm tốt hơn là 3 lần hoặc ít, và tốt hơn nữa là 2 lần hoặc ít.

Hơn nữa, trong chế phẩm dung dịch đệm, hợp chất được biết đến làm chất ổn định đối với yếu tố làm đông máu cũng có thể được bổ sung thích đáng. Ví dụ, glyxylglyxin, glyxylglyxylglyxin, và tương tự mà được bộc lộ trong công bố đơn yêu cầu cấp Patent Nhật bản số (JP-B) 06-050999 có thể được bổ sung. Hơn nữa, chất bảo quản, tác nhân điều chỉnh cường độ ion, và tương tự cũng có thể được bổ sung với điều kiện là hiệu quả của sáng chế không bị ảnh hưởng.

Trong phương pháp theo sáng chế, chế phẩm dung dịch đệm chứa yếu tố làm đông máu được bổ sung vào mẫu máu trước khi đo hoặc ở thời điểm đo thời gian đông máu. Ở đây, việc bổ sung chế phẩm dung dịch đệm trước khi đo thời gian đông máu tương ứng với việc xử lý sơ bộ mẫu máu. Trong trường hợp này, chế phẩm dung dịch đệm được bổ sung vào mẫu máu để xử lý sơ bộ mẫu máu, và khi đó đo thời gian đông máu có sử dụng chất phản ứng để đo đông máu. Mặt khác, việc bổ sung chế phẩm dung dịch đệm ở thời điểm đo thời gian đông máu tương ứng với quá trình bổ sung chế phẩm dung dịch đệm vào phần chất phản ứng để đo đông máu và đo thời gian đông máu. Giữa các thời điểm bổ sung này, tốt hơn là bổ sung chế phẩm dung dịch đệm vào mẫu máu trước khi đo thời gian đông máu, từ quan điểm rằng tính ổn định

bảo quản của các yếu tố đông máu được kết hợp trong chế phẩm dung dịch đậm là dễ dàng đảm bảo được.

Xét đến phương pháp đo thời gian đông máu, ví dụ, phương pháp phát hiện đông máu bằng cách đo thay đổi về quang học như là thay đổi trong ánh sáng được truyền đi hoặc thay đổi trong ánh sáng tán xạ, mà thay đổi cùng với phản ứng đông máu mà xuất hiện là kết quả của việc bổ sung chất phản ứng chứa canxi và phospholipit (chất phản ứng để đo thời gian đông máu) vào mẫu máu, hoặc bằng cách đo vật lý độ nhớt của mẫu đo, có thể là được sử dụng phù hợp.

Xét đến canxi, tốt hơn là sử dụng muối của axit vô cơ và canxi. Ví dụ về muối canxi này bao gồm canxi clorua. Hơn nữa, các ví dụ về muối canxi khác với muối của axit vô cơ và canxi bao gồm canxi lactat. Nồng độ của canxi trong chất phản ứng để đo thời gian đông máu có thể là ưu tiên được cài đặt theo dạng của phương pháp đo thời gian đông máu. Ví dụ, trong trường hợp của phương pháp đo APTT, nồng độ của canxi tốt hơn là nằm trong khoảng từ 20mM đến 25mM, và trong trường hợp của phương pháp đo PT, nồng độ của canxi tốt hơn là nằm trong khoảng từ 10mM đến 12,5mM.

Xét đến phospholipit, các phospholipit mà được sử dụng ở đây trong các chất phản ứng để đo thời gian đông máu có thể là được sử dụng phù hợp. Không có giới hạn cụ thể về mạch bên axit béo của phospholipit, nhưng axit palmitic, axit oleic, và axit stearic được ưu tiên. Ví dụ về phospholipit bao gồm phosphatidylserin, phosphatidyletanolamin, và phosphatidylcholin. Hơn nữa, phospholipit có thể là phospholipit có trong tự nhiên như là được lấy từ não bò, được lấy từ não thỏ, được lấy từ rau thai người, và phospholipit được lấy từ đậu tương, hoặc có thể là phospholipit được tạo ra bằng kỹ thuật gen. Nồng độ của phospholipit trong mẫu đo tốt hơn là, ví dụ, nằm trong khoảng từ 1 μ g/mL đến 200 μ g/mL trong chất phản ứng APTT, 10 μ g/mL đến 300 μ g/mL trong chất phản ứng PT, và 1 μ g/mL đến 300 μ g/mL trong chất phản ứng đo dRVVT.

Độ pH của chất phản ứng để đo thời gian đông máu có thể là ưu tiên được cài đặt khi cân nhắc pH ở thời điểm khi chất phản ứng được trộn với chế phẩm dung dịch đậm theo sáng chế; tuy nhiên, độ pH của chính chất phản ứng để đo tốt hơn là nằm

trong khoảng từ 6,0 đến 8,0, và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 7,0 đến 7,6. Độ pH có thể là ưu tiên được điều chỉnh bằng cách sử dụng tác nhân đệm mà được sử dụng trong các chất phản ứng thông thường để đo thời gian đông máu. Ví dụ về tác nhân đệm bao gồm HEPES và TRIS, nhưng các ví dụ không chỉ giới hạn ở các tác nhân này.

Chất phản ứng để đo thời gian đông máu có thể chứa thành phần mà có mặt trong các chất phản ứng thông thường được biết đến để đo thời gian đông máu, ngoài các thành phần được mô tả trên đây. Ví dụ về thành phần này bao gồm tác nhân hoạt hóa, nọc độc rắn, và các yếu tố mô. Ví dụ về tác nhân hoạt hóa bao gồm axit elagic, kaolin, Celit, keo silic oxit, axit silixic khan, alumin (nhôm oxit), và magie. Ví dụ về nọc độc rắn bao gồm nọc độc rắn hổ lục của Russell, nọc độc rắn Textarin, và nọc độc rắn Ecarin. Ví dụ về các yếu tố mô bao gồm thromboplastin mô tự nhiên như là được lấy từ não thỏ, được lấy từ rau thai người, và thromboplastin mô được lấy từ não bò; và thromboplastin mô được tái tổ hợp gen.

Phương pháp theo sáng chế có thể còn được áp dụng cho thử nghiệm điều chỉnh đông máu (thử nghiệm hỗn hợp) được mô tả trong Tài liệu phi sáng chế 1. Trong trường hợp này, phương pháp có thể được áp dụng cho phương pháp bổ sung mẫu máu bình thường vào mẫu máu được thử nghiệm, và xác định phạm vi mà thời gian đông máu được điều chỉnh, bằng cách vẽ đồ thị.

Cụ thể hơn là, ví dụ, mẫu huyết tương được pha loãng bằng cách bổ sung Pooled Normal Plasma (là sản phẩm của Precision Biologic, Inc.; dưới đây được viết tắt là PNP) làm huyết tương thông thường hoặc chế phẩm dung dịch đệm theo sáng chế vào huyết tương thử nghiệm ở tỷ lệ 1:1, được sử dụng làm mẫu thử nghiệm. Các mẫu được chuẩn bị bằng cách bổ sung huyết tương thông thường vào mẫu thử nghiệm này, và trộn mẫu thử nghiệm này với huyết tương thông thường sao cho tỷ lệ của huyết tương thông thường là 0%, 20%, 50%, 80%, và 100%, và tiến hành đo APTT. Các kết quả được vẽ đồ thị (trục nằm ngang: tỷ lệ của huyết tương thông thường được trộn, hoặc tỷ lệ của huyết tương thử nghiệm (%); trục thẳng đứng: thời gian đông máu (giây)), và thời gian đông máu có thể được xác định bằng mắt từ dạng đồ thị.

Khi phương pháp theo sáng chế được sử dụng, chỉ cần đơn giản tiến hành việc đo thời gian đông máu thông thường, ngoại trừ đơn thuần là chế phẩm dung dịch đệm được mô tả trên đây được bổ sung, và do đó sự có mặt hoặc không có mặt của LA có thể được phát hiện xác đáng và được xác định thậm chí với mẫu máu được lấy từ người nhận warfarin, là những người mắc bệnh thiếu hụt vitamin K, hoặc người bệnh suy gan.

Chế phẩm dung dịch đệm chứa yếu tố làm đông máu có thể được sử dụng làm chất phản ứng phụ trợ mà được sử dụng kết hợp với chất phản ứng để đo thời gian đông máu nhằm phát hiện chất chống đông máu luput.

Hơn nữa, dạng kết hợp của (A) chất phản ứng để đo thời gian thromboplastin được hoạt hóa một phần hoặc chất phản ứng để đo thời gian pha loãng nọc độc rắn hổ lục của Russell, với (B) chất phản ứng phụ trợ bao gồm chế phẩm dung dịch đệm chứa yếu tố làm đông máu làm thành phần chính, là hữu dụng làm kit phản ứng để đo thời gian đông máu nhằm phát hiện chất chống đông máu luput.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết thông qua các ví dụ dưới đây, nhưng không có ý định giới hạn sáng chế ở các ví dụ dưới đây.

Ví dụ 1

Huyết tương thử nghiệm được pha loãng với từng chất trong số các chất phản ứng phụ trợ được mô tả trong Bảng 1 ở tỷ lệ 1:1, và các hỗn hợp được sử dụng làm các mẫu để tiến hành thử nghiệm hỗn hợp thông thường. Thực hiện so sánh giữa các dạng đường cong trong các đồ thị.

Chỉ tiêu đo

(1) thử nghiệm sàng APTT

Tiến hành việc đo có sử dụng chất phản ứng PTT LA, "RD" (là sản phẩm của Roche Diagnostics GmbH), và chất phân tích đông máu tự động, STA-R (là sản phẩm của Roche Diagnostics GmbH). Để xác định, giá trị ngưỡng được mô tả trong phần đưa vào bao gói của chất phản ứng được sử dụng. Chất phản ứng thích đáng là chất phản ứng để tiến hành đo có sử dụng dung dịch canxi clorua tự tạo, khác với chất phản

ứng PTT LA chứa xephalin mà là phospholipit, và silic oxit mà là tác nhân hoạt hóa yếu tố tiếp xúc (phần mang điện âm). Chất phản ứng có thể được sử dụng cho phương pháp theo sáng chế kết hợp với chế phẩm dung dịch đậm chứa yếu tố làm đông máu (chất phản ứng phụ trợ) theo sáng chế.

(2) Thử nghiệm dRVVT

Tiến hành việc đo có sử dụng LA Test "GRADIPORE" (là sản phẩm của Medical & Biological Laboratories Co., Ltd.) và chất phân tích đông máu tự động, STA-R. Để xác định, giá trị ngưỡng được mô tả trong phần đưa vào bao gói của chất phản ứng được sử dụng. Chất phản ứng thích đáng được tạo thành từ Chất phản ứng 1 chứa nọc độc rắn hồ lục của Russell và phospholipit, và Chất phản ứng 2 chứa nọc độc rắn hồ lục của Russell và lượng dư phospholipit, và chất phản ứng có thể được sử dụng cho phương pháp theo sáng chế kết hợp với chế phẩm dung dịch đậm chứa yếu tố làm đông máu (chất phản ứng phụ trợ) theo sáng chế.

(3) Thử nghiệm trung hòa phospholipit

Tiến hành việc đo có sử dụng chất phản ứng STACLOT LA (là sản phẩm của Roche Diagnostics GmbH) và chất phân tích đông máu ST4 (là sản phẩm của Roche Diagnostics GmbH). Để xác định, giá trị ngưỡng được mô tả trong phần đưa vào bao gói của chất phản ứng được sử dụng.

(4) Thử nghiệm hỗn hợp

Tiến hành việc đo có sử dụng chất phản ứng PTT LA, "RD" (là sản phẩm của Roche Diagnostics GmbH), và chất phân tích đông máu tự động, CP2000 (là sản phẩm của SEKISUI MEDICAL CO., LTD.). Pooled Normal Plasma (dưới đây là PNP; Precision Biologic, Inc.) được sử dụng làm huyết tương thông thường. Tỷ lệ mẫu trộn được cài đặt đến 0%, 10%, 20%, 50% và 100%, và tiến hành việc đo bằng cách pha loãng tự động mẫu sử dụng chức năng thử nghiệm hỗn hợp của CP2000. Việc xác định được thực hiện nhờ đồ thị vẽ được, và nếu đồ thị cong lồi lên, mẫu được xác định là dương tính với LA. Nếu xác định là khó khăn, thì được xem là duy trì xác định.

(5) Dạng biến đổi của thử nghiệm hỗn hợp

Tiến hành việc đo theo cùng cách như trong (4), bởi việc đưa các mẫu thu được bằng cách pha loãng huyết tương thử nghiệm với PNP hoặc các chất phản ứng phụ trợ từ 1 đến 4 mà sẽ được mô tả dưới đây ở tỷ lệ 1:1, vào trong các cốc mẫu, và gắn các cốc mẫu trong CP2000. Việc xác định được thực hiện nhờ đồ thị vẽ được, và nếu đồ thị cong lồi lên, mẫu được xác định là dương tính với LA. Nếu xác định là khó khăn, thì được xem là duy trì xác định.

Chế phẩm dung dịch đệm theo sáng chế: chất phản ứng phụ trợ

Chuẩn bị các chất phản ứng phụ trợ khác nhau bằng cách bổ sung yếu tố làm đông máu được chỉ ra trong Bảng 1 vào HBS (50mM HEPES pH 7,5, và 150mM natri clorua) làm cơ sở. Đối với yếu tố làm đông máu, các sản phẩm của Haematologic Technologies, Inc. được sử dụng trong tất cả các trường hợp.

Bảng 1

Chế phẩm chất phản ứng phụ trợ

	Yếu tố IX ở người	Yếu tố X ở người	Yếu tố XII ở người	Yếu tố VIII ở người
Chất phản ứng phụ trợ 1	2U/mL	2U/mL	-	-
Chất phản ứng phụ trợ 2	2U/mL	2U/mL	-	1U/mL
Chất phản ứng phụ trợ 3	2U/mL	2U/mL	2U/MI	-
Chất phản ứng phụ trợ 4	2U/mL	2U/mL	2U/MI	1U/mL

Chế phẩm chất phản ứng phụ trợ

Huyết tương thử nghiệm

Các huyết tương thử nghiệm A và B cả hai là các huyết tương được gom từ những người bệnh, là những người dùng warfarin.

Các kết quả

Như thấy được trong Bảng 2, huyết tương A là dương tính trong tất cả các kiểm nghiệm LA bao gồm thử nghiệm sàng APTT, thử nghiệm dRVVT, và phương pháp chuẩn hóa phospholipit. Huyết tương B là dương tính đối với LA trong thử nghiệm sàng APTT và thử nghiệm dRVVT.

Bảng 2
Các kết quả và xác định thử nghiệm LA

Chỉ tiêu	Sàng APTT		Drvt			Phương pháp trung hòa phospholipit			
	giây	Xác định	giây	giây	Tỷ lệ	Xác định	giây	giây	Xác định
Giá trị ngưỡng	47				1,3			8	
Huyết tương A	143,0	Dương tính	220,4	82,5	2,67	Dương tính	132,0	86,0	Dương tính
Huyết tương B	57,4	Dương tính	77,9	54,8	1,42	Dương tính	47,7	47,8	Âm tính

Như được chỉ ra trong phần đối với không xử lý trong Bảng 3, đồ thị bên trái trên FIG.2, và đồ thị bên trái trên FIG.3, huyết tương A và B cả hai cho thấy khuynh hướng là đường cong xuống dưới trong thử nghiệm hỗn hợp, và được xác định là âm tính LA. Trong số các dạng biến đổi của thử nghiệm hỗn hợp, trong phương pháp có sử dụng huyết tương thông thường (PNP) mà thường được đề xuất, huyết tương A cho đồ thị dạng S hầu như là gần với đường thẳng, và khó xác định có phải hay không đường cong cong lồi lên hoặc đường cong xuống dưới (trong phần của Huyết tương thông thường được bổ sung trong Bảng 3, và đồ thị bên phải trên FIG.2). Ngược lại, khi các chất phản ứng phụ trợ từ 1 đến 4 theo sáng chế được sử dụng, huyết tương A cho các đồ thị mà rõ ràng là cong lồi lên, và do đó nó dễ dàng được xác định là dương tính (trong phần đối với các chất phản ứng phụ trợ trong Bảng 3, và FIG.4). Huyết tương B cho các đồ thị mà rõ ràng là đường cong xuống dưới, và nó được xác định là âm tính (trong cột về Chất phản ứng phụ trợ trong Bảng 3, và FIG.5).

Bảng 3: Thử nghiệm hỗn hợp và dạng biến đổi của thử nghiệm hỗn hợp

Mẫu			Tỷ lệ mẫu				
Huyết tương thử nghiệm	Xử lý	Xác định	0%	10%	20%	50%	100%
Huyết tương A	Không xử lý	Âm tính	34,1	49,4	57,4	88,2	166,1
	Huyết tương thông thường được bổ sung	Đang duy trì xác định	34,6	43,4	47,3	60,0	87,8
	Chất phản ứng phụ trợ 1 được bổ sung	Dương tính	34,2	45,1	46,6	55,2	73,8
	Chất phản ứng phụ trợ 2 được bổ sung	Dương tính	34,2	42,4	43,7	46,4	46,0
	Chất phản ứng phụ trợ 3 được bổ sung	Dương tính	34,2	44,2	45,9	53,8	71,3
	Chất phản ứng phụ trợ 4 được bổ sung	Dương tính	34,2	41,4	41,9	42,6	42,2
Huyết tương B	Không xử lý	Âm tính	34,4	35,3	36,4	40,3	56,6
	Huyết tương thông thường được bổ sung	Âm tính	33,2	33,6	33,9	35,9	39,7
	Chất phản ứng phụ trợ 1 được bổ sung	Âm tính	34,1	33,6	34,0	35,8	47,0
	Chất phản ứng phụ trợ 2 được bổ sung	Âm tính	34,1	33,5	32,6	31,5	35,0
	Chất phản ứng phụ trợ 3 được bổ sung	Âm tính	34,1	33,2	33,2	32,4	37,3
	Chất phản ứng phụ trợ 4 được bổ sung	Âm tính	34,1	32,1	30,7	27,6	28,6

Theo sáng chế, dễ dàng xác định được rằng việc xác định âm tính trong thử nghiệm hỗn hợp của huyết tương A được rơi vào âm tính do dùng warfarin, và thực tế là dương tính với LA. Điều này có thể đã không phát hiện được bằng thử nghiệm hỗn hợp thông thường hoặc dạng biến đổi của thử nghiệm hỗn hợp. Hơn nữa, huyết tương B là dương tính trong thử nghiệm sàng APTT và thử nghiệm dRVVT, nhưng xác định được là việc xác định được rơi vào dương tính trong tất cả các trường hợp do dùng warfarin, và thực tế là âm tính LA.

Ví dụ 2

Bổ sung 0,5 thể tích của chất phản ứng phụ trợ được mô tả dưới đây vào 9,5 thể tích của huyết tương thử nghiệm, và trộn các thành phần để chuẩn bị mẫu đo. Do đó mẫu được đưa vào to thử nghiệm dRVVT, và tỷ lệ của thời gian đông máu được xác định.

Chỉ tiêu đo

(1) thử nghiệm dRVVT

Thử nghiệm dRVVT được tiến hành sử dụng DVVtest (nhãn hiệu hàng hóa đã được đăng ký) và DVVconfirm (tất cả là sản phẩm của Sekisui Diagnostics, LLC) làm các chất phản ứng để đo thời gian đông máu, và sử dụng thời gian ủ để đo mẫu là 216 giây và các thông số về điểm đông máu APT trong chất phân tích đông máu tự động, CP2000 (là sản phẩm của SEKISUI MEDICAL CO., LTD.). Giá trị ngưỡng (t/c) trong Ví dụ này được cài đặt đến 1,3 hoặc nhỏ hơn, và tiến hành phát hiện và xác định LA. Các chất phản ứng thích đáng được tạo thành từ chất phản ứng DVVtest (nhãn hiệu hàng hóa đã được đăng ký) chứa nọc độc rắn hổ lục của Russell, phospholipit và canxi, và chất phản ứng DVVconfirm chứa nọc độc rắn hổ lục của Russell, lượng dư phospholipit, và canxi. Các chất phản ứng có thể được sử dụng trong phương pháp theo sáng chế kết hợp với chế phẩm dung dịch đệm chứa yếu tố làm đông máu (chất phản ứng phụ trợ) theo sáng chế.

Chế phẩm dung dịch đệm theo sáng chế: chất phản ứng phụ trợ

FX và FII được kết hợp sao cho nồng độ của FX sẽ là 20 lần nồng độ được mô tả trong dòng của Bảng 4, và nồng độ của FII sẽ là 20 lần nồng độ được mô tả trong

cột của Bảng 4, và hòa tan các yếu tố trong HBS để chuẩn bị 28 chất phản ứng phụ trợ khác nhau. Đối với FX và FII, các sản phẩm của Haematologic Technologies, Inc. được sử dụng.

Huyết tương thử nghiệm

Làm huyết tương âm tính LA không dùng warfarin: huyết tương L(-)W(-), AK CALIBRANT A (là sản phẩm của Sysmex Corp.) được sử dụng; làm huyết tương âm tính LA có dùng warfarin: huyết tương L(-)W(+), AK CALIBRANT D (là sản phẩm của Sysmex Corp.) được sử dụng; làm huyết tương dương tính LA không dùng warfarin: huyết tương L(+)W(-), Lupus Anticoagulant Plasma (là sản phẩm của Trina Bioreactives AG) được sử dụng; và làm huyết tương dương tính LA có dùng warfarin: huyết tương L(+)W(+), Lupus Anticoagulant Plasma (là sản phẩm của Busicom, Inc.) được sử dụng.

Các kết quả

Các kết quả được thể hiện trong Bảng 4.

Khi không có FII và FX được bổ sung (0U/mL), xác định được như sau:

huyết tương của L(-)W(-) là âm tính LA;

huyết tương của L(-)W(+) là âm tính LA;

huyết tương của L(+)W(-) là dương tính LA; và

huyết tương của L(+)W(+) là âm tính LA, và

đã thu được các kết quả của LA rơi vào âm tính đối với huyết tương của L(+)W(+).

Hơn nữa, huyết tương của L(-)W(+) là âm tính LA, nhưng giá trị t/c là 0,62, mà là giá trị không bình thường.

Về vấn đề này, khi bất kỳ một hoặc nhiều FII và FX được bổ sung vào các huyết tương thử nghiệm khác nhau, chỉ giá trị t/c của huyết tương của L(+)W(+) tăng đến giá trị cao hơn so với hoặc tương xứng với giá trị ngưỡng, trong khi duy trì việc xác định các kết quả đối với huyết tương của L(-)W(-), huyết tương của L(-)W(+), và

huyết tương của L(+)W(-). Do đó, đã thu được các kết quả là dương tính LA mà nên thu được.

Hơn nữa, khi bất kỳ một hoặc nhiều FII và FX được bổ sung vào huyết tương của L(-)W(+), giá trị t/c tiến gần đến 1, và khẳng định rằng ảnh hưởng của việc dùng warfarin có thể giảm. Khi điểm số này và điểm số của huyết tương của L(+)W(+) được đưa vào cân nhắc, hàm ý rằng thử nghiệm dRVVT sử dụng phương pháp theo sáng chế có thể phát hiện LA xác đáng thậm chí trong trường hợp dùng warfarin. Do đó, phương pháp theo sáng chế là rất hữu dụng trong, ví dụ, việc giám sát hiệu quả chữa bệnh LA trong quá trình dùng warfarin.

Bảng 4

	FII (U/mL)		0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
FX (U/mL)	LA	W	t/c	t/c	t/c	t/c	t/c	t/c
0	-	-	1,04					1,14
	-	+	0,62					0,86
	+	-	2,21					2,16
	+	+	1,26					2,22
0,1	-	-		1,06	1,08	1,07	1,09	1,11
	-	+		0,84	0,90	0,91	0,94	0,97
	+	-		2,31	2,33	2,36	2,36	2,37
	+	+		1,95	2,21	2,35	2,40	2,43
0,2	-	-		1,09	1,11	1,12	1,11	1,07
	-	+		0,88	0,92	0,90	0,93	0,94
	+	-		2,36	2,43	2,41	2,42	2,28
	+	+		2,10	2,39	2,37	2,54	2,09
0,3	-	-		1,11	1,12	1,11	1,12	1,12
	-	+		0,89	0,98	0,93	0,97	0,99
	+	-		2,37	2,46	2,44	2,43	2,43
	+	+		2,05	2,39	2,40	2,47	2,51
0,4	-	-		1,11	1,11	1,13	1,14	1,14
	-	+		0,87	0,94	0,96	0,99	1,03
	+	-		2,45	2,48	2,48	2,47	2,46
	+	+		2,13	2,30	2,49	2,59	2,58
0,5	-	-	1,11	1,10	1,12	1,12	1,14	1,14
	-	+	0,98	0,97	0,88	0,95	1,00	1,02
	+	-	2,35	2,35	2,37	2,46	2,47	2,45
	+	+	2,06	1,99	2,20	2,43	2,57	2,65

Trong phương pháp theo sáng chế, thậm chí khi huyết tương của đối tượng (+), là người đôi khi được xác định là âm tính LA (rơi vào âm tính) bằng thử nghiệm

dRVVT, nhưng là dương tính LA (+) và cả nhận dùng warfarin (+) (huyết tương của L(+)W(+)) được đo, việc xác định chính xác, tức là dương tính với LA, được thực hiện không bị ảnh hưởng bởi việc dùng warfarin.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp đo thời gian đông máu để phát hiện chất chống đông máu luput, phương pháp này bao gồm việc bổ sung chế phẩm dung dịch đệm chứa yếu tố làm đông máu vào mẫu máu trước khi đo hoặc ở thời điểm đo thời gian đông máu, và đo thời gian đông máu.
2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó yếu tố làm đông máu là một dạng hoặc hai hoặc nhiều dạng được chọn từ nhóm bao gồm FII, FVII, FVIII, FIX, FX, FXI và FXII.
3. Phương pháp theo điểm 1 hoặc 2, trong đó mẫu máu là máu toàn phần hoặc huyết tương.
4. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó chế phẩm dung dịch đệm chứa yếu tố làm đông máu được bổ sung vào mẫu máu trước khi đo thời gian đông máu.
5. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó mẫu máu được lấy từ người được chọn từ người nhận warfarin, người bị thiếu hụt vitamin K, và người bệnh bị suy gan.
6. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó phương pháp đo đối với thời gian đông máu là thời gian thromboplastin được hoạt hóa một phần hoặc thời gian pha loãng nọc độc rắn hổ lục của Russell.
7. Kit phản ứng dùng để đo thời gian đông máu nhằm phát hiện chất chống đông máu luput, kit phản ứng này bao gồm (A) và (B) dưới đây:
 - (A) chất phản ứng để đo thời gian thromboplastin được hoạt hóa một phần hoặc chất phản ứng để đo thời gian pha loãng nọc độc rắn hổ lục của Russell; và
 - (B) chất phản ứng chứa chế phẩm dung dịch đệm có yếu tố làm đông máu làm thành phần chính.
8. Kit phản ứng theo điểm 7, trong đó yếu tố làm đông máu là một dạng hoặc hai hoặc

nhiều dạng được chọn từ nhóm bao gồm FII, FVII, FVIII, FIX, FX, FXI và FXII.

9. Kit phản ứng theo điểm 7, trong đó yếu tố làm đông máu là một dạng hoặc hai hoặc nhiều dạng được chọn từ nhóm bao gồm FII, FVII và FX.

Fig. 1

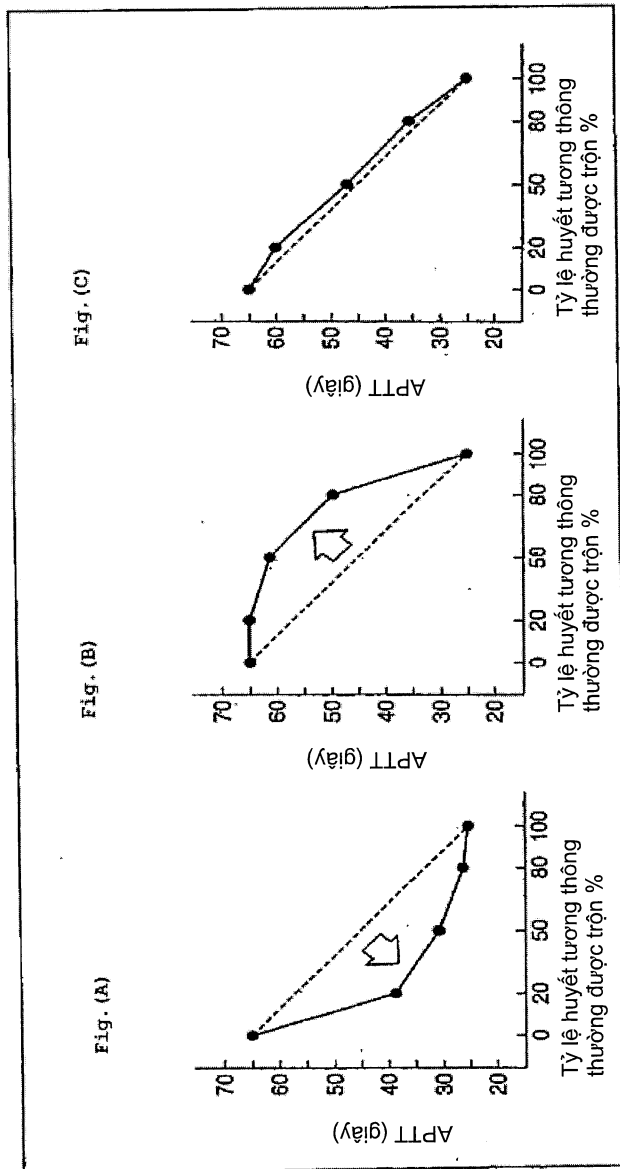


Fig. 2

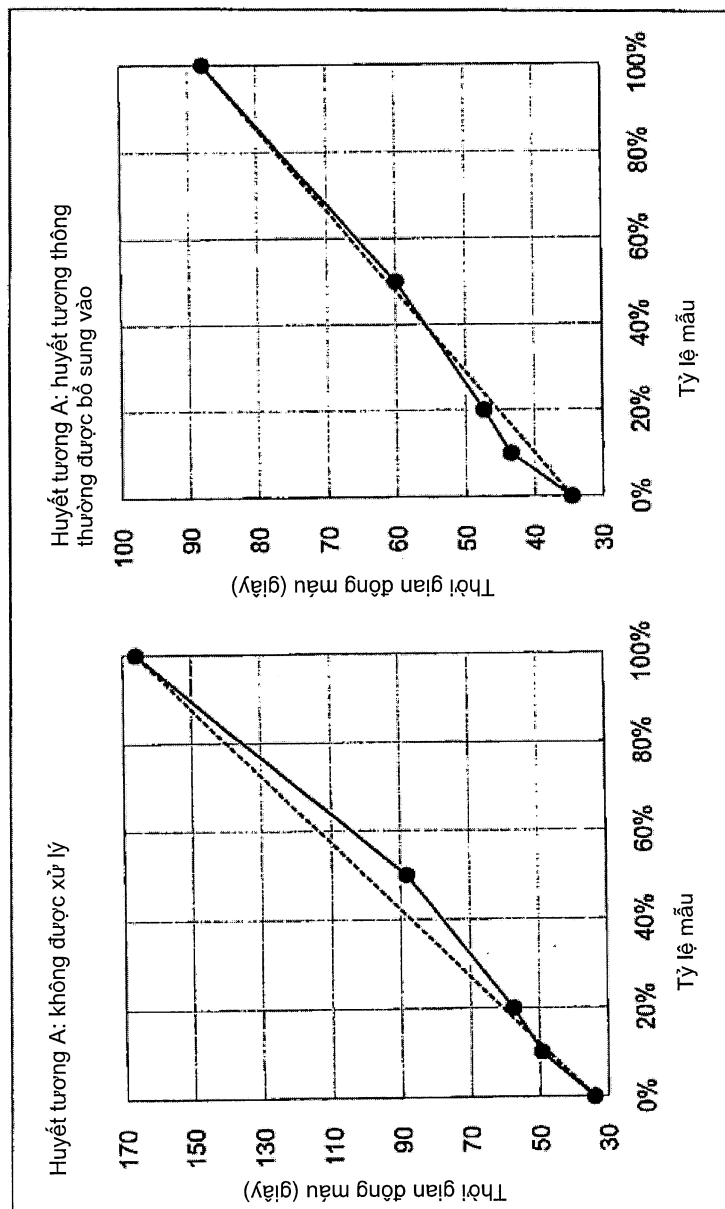


Fig. 3

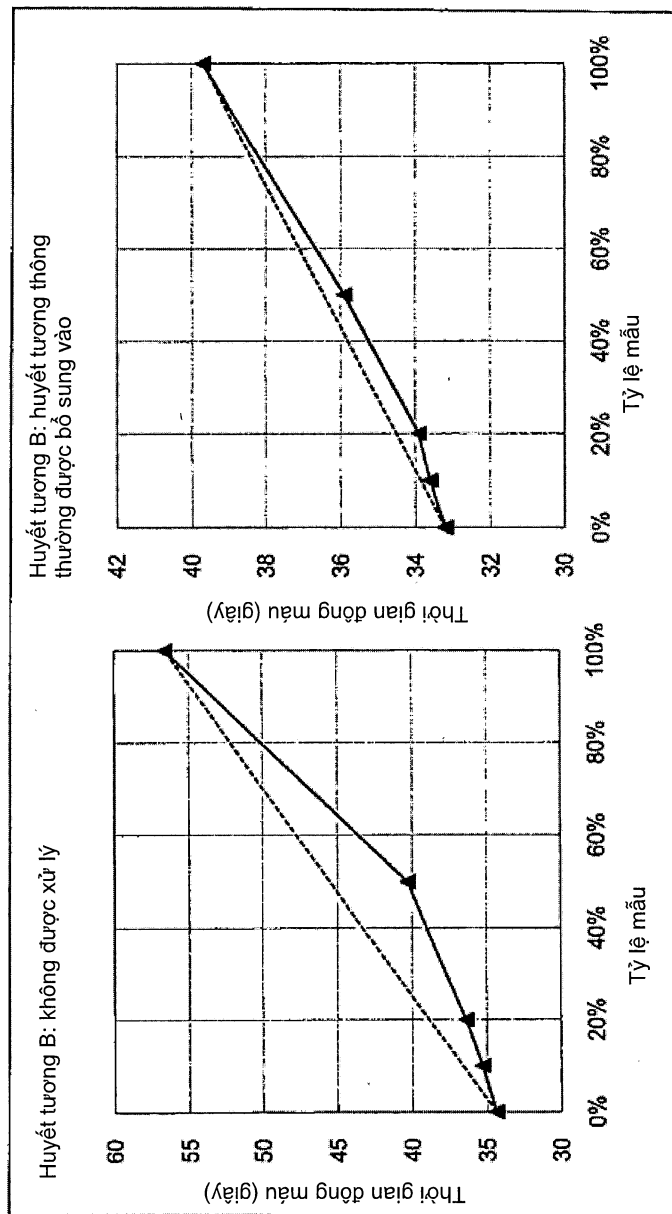


Fig. 4

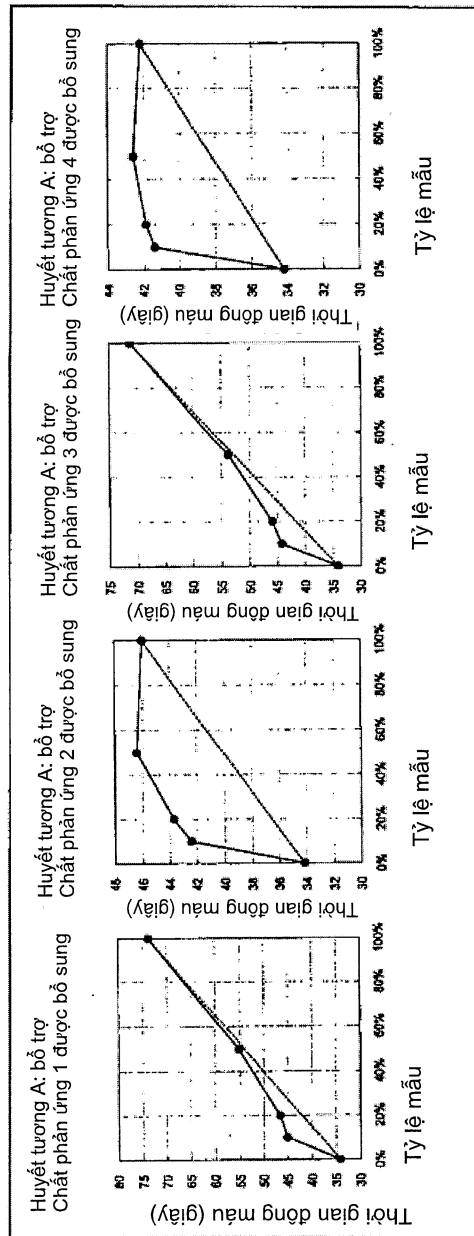


Fig. 5

