



BioMedica Diagnostics Inc.
P.O. Box 1030, 94 Wentworth Road
Windsor, NS B0N 2T0 Canada
1.902.798.5105
www.biomedicadiagnostics.com

DVVtest[®] 10

DVVtest[®] 25

REF 810/825

DVVconfirm[®] 5

DVVconfirm[®] 10

REF 815/815L



Obelis s.a
Boulevard Général Wahis 53, 1030 Brussels, BELGIUM

ENGLISH

INTENDED USE

DVVtest® is a single-step dilute Russell's Viper Venom Time (dRVVT) test intended for the determination of the presence of Lupus Anticoagulants (LA) in human plasma. DVVtest may be performed manually, or by using semi-automated or automated coagulation analysers. The reagent is for in vitro diagnostic use.

DVVconfirm® is a single-step dilute Russell's Viper Venom Time (dRVVT) test intended for the determination of the presence of Lupus Anticoagulants (LA) in human plasma. DVVconfirm may be performed manually, or by using semi-automated or automated coagulation analysers. The reagent is for in vitro diagnostic use.

EXPLANATION OF THE TEST

The identification of Lupus Anticoagulants (LA) in plasma is a diagnostic hallmark of the Antiphospholipid Syndrome (APS) which is characterized clinically by arterial/venous thrombosis, recurrent spontaneous fetal loss, thrombocytopenia and/or neurological disorders.¹ LA may also be induced as a result of administration of chlorpromazine, procainamide, thiorazine and certain antibiotics. In 1952, Conley and Hartmann² first described the presence of LA in patients with Systemic Lupus Erythematosus (SLE). It is now recognized that LA are more commonly found in patients who do not have SLE.³ LA autoantibodies are specifically directed against a variety of phospholipid binding proteins including β 2-glycoprotein I (β 2GPI), prothrombin, and annexin V which are complexed to different anionic phospholipids (e.g. cardiolipin, phosphatidylinositol and phosphatidylserine⁴). Lupus Anticoagulants are immunoglobulins of the IgG, IgM and IgA isotypes that prolong one or more of the *in vitro* phospholipid-dependent coagulation tests (e.g. activated partial thromboplastin time (aPTT), dilute prothrombin time (dPT), Textarin time or dRVVT). The International Society for Thrombosis and Hemostasis,

Scientific Subcommittee Criteria on Lupus Anticoagulants and Phospholipid-dependent Antibodies has recommended that LA be diagnosed using coagulation-based screening tests and a confirmatory test containing a high phospholipid concentration.⁵ BioMedica Diagnostics has developed DVVtest as a primary screening diagnostic test for LA and DVVconfirm as the companion high phospholipid-containing test to confirm the diagnosis of LA. DVVtest and DVVconfirm are specially formulated to reduce the effect of heparin to maximize the sensitivity and specificity of diagnosing LA.¹⁴

PRINCIPLE OF THE METHOD

DVVtest reagent contains activator isolated from Russell's Viper Venom that directly activates Factor X to Factor Xa in the presence of phospholipids and calcium. Factor Xa cleaves prothrombin to thrombin, which converts fibrinogen to fibrin leading to detectable clot formation in plasma. This direct activation of Factor X bypasses the Contact and Intrinsic pathways in the coagulation cascade, thereby excluding interference from deficiencies of Factors VIII, IX, XI and XII, or their respective inhibitors. A positive DVVtest is indicated by a significant prolongation of the phospholipid-dependent clotting time (> 2 standard deviations above the laboratory's normal reference mean). If a patient is suspected to have LA, the DVVtest may also be performed on samples with a normal APTT because the dilution and type of phospholipids contained in the DVVtest reagent increases the test's sensitivity and specificity to LA.⁶

DVVconfirm is the high phospholipid containing coagulation assay used in conjunction with DVVtest to confirm for the presence of LA in plasma.⁷ DVVconfirm is formulated with activator isolated from Russell's Viper Venom and a high concentration of phospholipids. The clotting time of a plasma containing LA should be significantly shorter with DVVconfirm as compared to DVVtest. The presence of LA in plasma samples is confirmed when the ratio of the DVVtest clotting time to the DVVconfirm clotting time is greater than the range of the laboratory's normal reference DVVtest/DVVconfirm Ratio (mean normal ratio \pm 2 S.D.).



REAGENTS

The DVVtest and DVVconfirm reagents are supplied lyophilized and consist of proprietary mixtures of activator isolated from Russell's Viper Venom, calcium, and phospholipids, as well as inert additives and preservatives. Unopened vials stored at 2°- 8°C are stable until the expiration date printed on the label.

The DVVtest reagents are packaged in two vial sizes: REF 810, comprises 10 vials, with each vial containing reagent for 20 tests as performed by most automated methods; REF 825, comprises 10 vials, with each vial containing reagent for 50 tests as performed by most automated methods.

The DVVconfirm reagents are packaged in two vial sizes: REF 815, comprises 10 vials, with each vial containing reagent for 10 tests as performed by most automated methods; REF 815L, comprises 10 vials, with each vial containing reagent for 20 tests as performed by most automated methods.

WARNING

DVVtest®	Warning		H319, H412, P264, P273, P280, P305 + P351 + P338, P337+ P313		
DVVconfirm®	Danger		<table border="1"><tr><td>CONT</td><td>Imidazole</td></tr></table> H315, H318, H360, H412, P202, P280, P273, P302 + P352, P332 + P313, P305 + P351 + P338	CONT	Imidazole
CONT	Imidazole				

H315 Causes skin irritation.

H318 Causes serious eye damage.

H319 Causes serious eye irritation.

P202 Do not handle until all safety precautions have been read and understood.

H360 May damage fertility or the unborn child.

H412 Harmful to aquatic life with long lasting effects.

P264 Wash thoroughly after handling.

P273 Avoid release to the environment.

P280 Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P302 + P352 IF ON SKIN: Wash with plenty of water.

P305 + P351 + P338 IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

P332 + P313 If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.

P337 + P313 If eye irritation persists: Get medical advice/attention.

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

Blood samples may be drawn using syringes or evacuated siliconized tubes. Mix nine parts of blood with one part of 3.2 or 3.8% (109 or 129 mM) of the dihydrate form of trisodium citrate. If the patient's haematocrit is greater than 55%, the DVVtest and DVVconfirm results may be inaccurate, and require an adjustment of the blood to anticoagulant ratio.⁸ After mixing, centrifuge the samples at a minimum of 5,000-x g for 10 minutes. It is imperative that all plasmas tested using this reagent be platelet poor, having fewer than 10^4 platelets/ μL , especially prior to their freezing, otherwise some shortening of the test results may occur which could mask the presence of LA⁵. This can be achieved by means of the above centrifugation step or by filtering the plasma through a 0.22 micron filter. Collected plasma may then be stored at 2°- 8°C but should be tested within four hours. Alternatively, plasma may be rapidly frozen and stored at -70°C for up to six months. Frozen plasmas must be thawed rapidly at 37°C before use, and tested immediately, or stored for no more than two hours at 2°- 8°C.⁸

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

LAtrol™ Abnormal Control Plasma (REF 816A), LAtrol™ Normal Control Plasma (REF 816N)¹⁰ or equivalent
Pipettes that deliver volumes from 100 µL up to 5.0 mL

Purified deionized or distilled water



REAGENT PREPARATION AND STABILITY

NOTE: The DVVconfirm lyophilizate has a powdery appearance; however, the DVVtest lyophilizate may appear crystalline.

Reconstitute each vial of the reagent with deionized water according to the instructions on the label.

REF	810	825	815	815L
Volume H ₂ O	2.0 mL	5.0 mL	1.0 mL	2.0 mL

Mix the reagent well and allow to stand at room temperature for at least 15 minutes to ensure complete dissolution. Once reconstituted, the reagent will remain stable for:

	24 hours	5 days	1 month
	20°- 25°C	2°- 8°C	-20°C

Reconstituted reagent may be recovered from instrument reagent reservoirs provided the 24-hour room temperature stability time has not passed.

Reconstituted reagent may be frozen in plastic storage tubes to ensure its stability.

To use frozen reagent, thaw the reagent for at least 10 minutes at 37°C and vortex well before use.

TEST PROCEDURES

DVVtest and DVVconfirm may be performed manually, or by using semi-automated or automated coagulation analysers.

Equal volumes of reagent and sample are added (i.e., 100 µL DVVtest or DVVconfirm and 100 µL sample plasma). DVVtest or DVVconfirm results are reported in time (seconds). Reconstituted reagent should be mixed well before use. Both reagent and sample plasma should be incubated at 37°C for at least two minutes prior to testing. Use dedicated reagent tubing and place magnetic stir bars in reagent reservoirs. Perform a rinsing and/or cleaning procedure after using the reagent, especially on instruments that do not have dedicated reagent tubing, before performing other clotting or chromogenic assays.

BioMedica Diagnostics offers Instrument Applications for several coagulation analysers. These Instrument Applications may contain platform specific programming and performance data which differ from that provided in this Instructions for Use. In these cases, the information contained in the Instrument Application supersedes the information in this Instruction for Use. Please consult the specific manufacturer's instrument manual for complete operating instructions.

QUALITY CONTROL

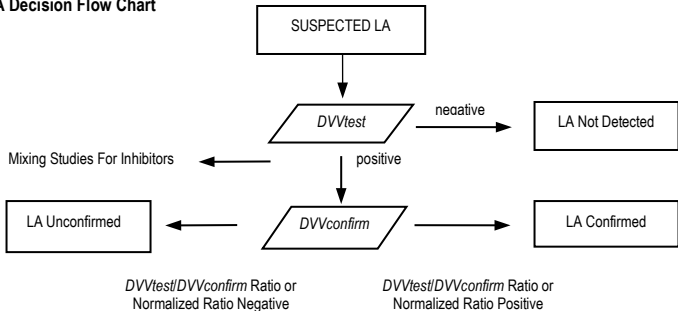
Both normal and abnormal LA control plasmas should be tested with each group of assays, with a change in personnel or work shift, and with every 40 samples.¹¹ Control plasmas must be platelet poor containing fewer than 10^4 platelets/ μ L. LATrol Abnormal and Normal Plasmas (REF 816A and 816N)¹⁰ may be used for quality control. Values for both the normal and abnormal LA control plasmas should fall within the laboratory's established control ranges before patient samples are tested.⁸

NORMAL REFERENCE RANGE

Each laboratory should establish its own DVVtest and DVVconfirm normal reference range (mean value \pm 2 S.D.). A minimum of 20 plasmas from healthy blood donors representative of the patient population, including both men and women and spanning the adult age range, should be used (see EXPECTED VALUES). When establishing the normal reference range, handle the normal plasma samples in the same manner as test samples. If frozen samples are tested exclusively, the normal ranges should be established on frozen normal samples only. It is not recommended to test mixed plasma populations of fresh and frozen samples, either for the reference ranges or for routine testing. A new normal reference range MUST be established whenever there is a change in reagent lot number or instrument or at least once per year (whichever comes first). Obtain data over a period of several days to determine day-to-day variation.

INTERPRETATION AND REPORTING RESULTS

LA Decision Flow Chart



DVVtest Results

If the DVVtest time of the sample plasma is within the established normal reference range for the laboratory (mean \pm 2 S.D.), the test is negative for LA.

If the DVVtest time of the sample plasma is greater than 2 S.D.'s above the mean of the normal reference, the test is positive for LA.

NOTE: A positive DVVtest indicates either LA are present or the plasma may contain a Factor II, V or X deficiency. When the DVVtest is positive, the presence of LA should be confirmed by retesting using DVVconfirm to obtain a DVVtest/DVVconfirm Ratio (see below). The DVVconfirm test should be performed on the same patient sample and on the same day that the DVVtest has been performed. Mixing studies should be performed to determine the presence of a factor deficiency.

DVVconfirm Results

If a sample tested positive for DVVtest, then the DVVconfirm test should be performed. The results from DVVconfirm testing can be reported using DVVtest/DVVconfirm Ratio or Normalized Ratio.

1) The DVVtest/DVVconfirm Ratio is calculated by dividing the DVVtest time (seconds) by the DVVconfirm time (seconds) as follows:

$$\text{DVVtest/DVVconfirm Ratio} = \text{DVVtest (sec)} \div \text{DVVconfirm (sec)}$$

The DVVtest/DVVconfirm Ratio must be determined for normal reference plasmas. The ratio of the test plasma when greater than 2 standard deviations above the mean of the laboratory's normal reference DVVtest/DVVconfirm Ratio confirms a positive test for LA. If the DVVtest/DVVconfirm Ratio result is within the normal reference ratio range, then the test is negative for LA, or other abnormalities are present.

2) The Normalized Ratio is calculated as follows:

$$\text{Normalized Ratio} = \frac{\text{DVVtest (sample)} \div \text{DVVtest (mean normal reference)}}{\text{DVVconfirm (sample)} \div \text{DVVconfirm (mean normal reference)}}$$

Example Only: Patient DVVtest: 58.9 seconds
 Patient DVVconfirm: 32.2 seconds
 Mean DVVtest: 35.8 seconds
 Mean DVVconfirm: 32.8 seconds

$$\text{Normalized Ratio} = \frac{58.9 \div 35.8}{32.2 \div 32.8} = \frac{1.64}{0.98} = 1.67$$

Interpretation of Normalized Ratio Results

Normalized Ratio	LA Status
> 2.0	LA is strongly present
1.5 to 2.0	LA is moderately present
1.2 to 1.5	LA is weakly present

Test results may be reported either as positive/negative for LA, or by reporting the DVVtest/DVVconfirm Ratio or Normalized Ratio. When reporting the Ratio results, the value for the reference range must also be reported.

EXPECTED VALUES

Normal Reference Ranges (± 2 S.D.)¹²

INSTRUMENT:	MLA 1000C	ST4	ACL 300+
DVVtest Time (sec)	28 - 45	29 - 51	28 - 47
DVVconfirm Time (sec)	30 - 44	21 - 46	28 - 40
DVVtest/DVVconfirm Ratio	0.77 - 1.21	0.95 - 1.47	0.83 - 1.35
n	21	25	20

Reference ranges were generated by BioMedica Diagnostics in accordance with CLSI Document H21-A5.⁸ Donors included both men and women, spanning the adult age range and having normal PT and APTT values. These results should be used only as a guide. Results will vary among laboratories, and each testing site must establish its own normal reference range for all instruments and methods employed.

INTERFERING SUBSTANCES

Samples suspected of containing inhibitors of Factors II, V or X may give false positive results. If DVVtest is performed on plasmas that contain high levels of Factor VIII (greater than 200%), the reagent may not identify the presence of LA, yielding a false negative.¹²

Oral anticoagulants and other Vitamin K antagonists may prolong the DVVtest and DVVconfirm times. In 2006, an update to the classification criteria for antiphospholipid syndrome (APS) was issued.¹³ The update recommends that if the patient is on an oral anticoagulant, the patient sample should be diluted 1:2 with normal

plasma (1 part patient plasma + 1 part normal plasma) before performing the test, providing that the INR (international normalized ratio) is < 3.5. When the INR > 3.5, LA testing should not be attempted.

If the laboratory does not know that the patient is on an oral anticoagulant, the test results for the DVVconfirm must be looked at closely. If the DVVconfirm does not show significant correction (a shorter clot time) relative to the DVVtest and is prolonged relative to the DVVconfirm time for normal plasma, then the presence of an oral anticoagulant is suspected. In this case the patient sample should be mixed 1:2 with normal plasma and the DVVtest performed again. If the DVVtest clot time is still prolonged, the DVVconfirm should also be performed on the 1:2 mix to confirm if the DVVtest results are phospholipid-dependent.

DVVtest and DVVconfirm contain agents that neutralize standard unfractionated heparin up to and including 1.0 U/mL. Plasmas containing heparin levels greater than 1.0 U/mL may give elevated results with these tests. Some low molecular weight heparins (LMWH) may interfere with DVVtest. Studies have shown that plasma spiked with 2.0 units/mL of Fragmin® (dalteparin sodium injection) did not interfere with assay results. Plasma spiked with Lovenox® (enoxaparin sodium injection) at concentrations greater than 0.25 units/mL interfered with assay results.¹²

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Do not test hemolyzed, lipemic, or icteric samples. Samples suspected to have Factor II, V or X deficiencies should be tested using mixing studies.

Samples should be tested using at least one other coagulation-based LA test as no single test can absolutely identify the presence of Lupus Anticoagulants in every plasma.⁵

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Precision

The DVVtest and DVVconfirm assays have been performed in a quality control program by BioMedica Diagnostics and two independent laboratories. The overall coefficient of variation (CV) for normal plasmas was less than 4.0% for DVVtest and less than 5.0% for DVVconfirm. For abnormal plasmas the overall CV was less than 6.5% for DVVtest and less than 5.0% for DVVconfirm.¹²

Specificity

The DVVtest and DVVconfirm reagents were tested¹² using both normal and abnormal plasmas as described below.

Plasma Sample	Positive DVVtest/DVVconfirm
Lupus anticoagulant plasma	100% (17/17)
normal plasma	2.1% (2/96)
heparinized plasma	0% (0/2)
factor deficient plasma	0% (0/8)
factor VIII inhibitor plasma	0% (0/2)

SUMMARY OF SAFETY AND CLINICAL PERFORMANCE

The Summary of Safety and Clinical Performance (SCCP) is available in the European Database on Medical Devices (Eudamed), at <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> under the following Basic UDI-DI (GMN):

REF 810 0062794400205C

REF 815 0062794400215E

REF 825 0062794400255N

REF 815L 0062794400315H

REFERENCES

1. Harris, E. N., Asherson, R. A., and Hughes, G. R. V. Antiphospholipid antibodies - autoantibodies with a difference. *Ann Revs Med* 1988, **39**: 261-271.
2. Conley, C. L. and Hartmann, R. C. A hemorrhagic disorder caused by a circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1952, **31**: 621-622.
3. Triplett, D. A., Brandt, J. T. and Maas, R. L. The laboratory heterogeneity of lupus -anticoagulants. *Arch Path Lab Med* 1985; **109**: 946-951.
4. Thiagarajan, P., Shapiro, S. S and DeMarco, L. Monoclonal immunoglobulin M lambda coagulation inhibitor with phospholipid specificity: Mechanism of a lupus anticoagulant. *J Clin Invest* 1980, **66**: 397-405.
5. Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, de Groot PG. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J Thromb Haemost* 2009; **7**: 1737-40.
6. Exner, T., Papadopoulos, G. and Koutts, J. Use of a simplified dilute Russell viper venom time (dRVVT) confirms heterogeneity among 'Lupus Anticoagulants.' *Blood Coag Fibrinol* 1990, **1**: 259-266.
7. Thiagarajan, P., Pengo, V. and Shapiro, S. S. The use of the dilute Russell viper venom time for the diagnosis of lupus anticoagulants. *Blood* 1986, **68**: 869-874.
8. CLSI. *Collection, transport and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays – 5th Edition*. CLSI document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
9. Brandt, J. T. "Q & A". *CAP Today*, August 1992; Page 61.
10. Available from BioMedica Diagnostics, or your local distributor
11. Passey, R. B. Walking the straight and narrow on quality control. *MLO* 1993; **2**: 39-43.
12. Data on file, BioMedica Diagnostics.

13. Miyakis, S., *et al.* International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2006, **4**: 295-306.
14. CLSI. *Laboratory Testing for the Lupus Anticoagulant; Approved Guideline*. CLSI document H60-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.

DEUTSCH

ANWENDUNGSBEREICH

DVVtest® ist ein einstufiger verdünnter Russell's Viper Venom Time (dRVVT)-Test zur Bestimmung des Vorhandenseins von Lupus-Antikoagulanzen (LA) in Humanplasma. Der DVVtest kann manuell oder mit halbautomatischen oder automatisierten Gerinnungsanalytoren durchgeführt werden. Das Reagenz ist für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.

DVVconfirm® ist ein einstufiger verdünnter Russell's Viper Venom Time (dRVVT) Test zur Bestimmung des Vorhandenseins von Lupus-Antikoagulanzen (LA) in Humanplasma. DVVconfirm kann manuell oder mit halbautomatischen oder automatisierten Gerinnungsanalytoren durchgeführt werden. Das Reagenz ist für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.

ERKLÄRUNG DES TESTS

Die Identifizierung von Lupus Antikoagulans (LA) in Plasma ist ein wichtiger Schritt in der Diagnostik des Antiphospholipid-Syndroms (APS). APS ist klinisch charakterisiert durch arterielle/venöse Thrombosen,

wiederholte spontane Aborte, Thrombozytopenien und/oder verschiedene neurologische Störungen.¹ LA wird auch bei der Einnahme bestimmter Medikamente, wie u.a. Chlorpromazin, Procainamid und Thorazin und anderer Antibiotika, beobachtet. LA wurde erstmals 1952 von Conley und Hartmann² bei Patienten mit systemischem Lupus erythematodes (SLE) beschrieben. In der Folgezeit wurde gefunden, dass LA häufiger bei Patienten auftritt, die nicht an SLE erkrankt waren.³ LA sind Autoantikörper gegen Protein/Phospholipid-Komplexe, wobei bei der Komplexbildung verschiedene Phospholipidbindende Proteine, wie β 2-Glycoprotein-1 (β 2GP1), Prothrombin und Annexin V, sowie verschiedene anionische Phospholipide, wie z.B. Cardiolipin, Phosphatidylinositol oder Phosphatidylserin, eine Rolle spielen.⁴ LA sind Immunglobuline der IgG-, IgM- oder IgA-Klasse. Sie bewirken eine Verlängerung der Gerinnungszeit in Phospholipid-abhängigen *in vitro*-Gerinnungstests (z.B. der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT), der „dilute Prothrombin Time“ (dPT), der Textarin-Zeit oder des dRVVT). Die Internationale Gesellschaft für Thrombose und Hämostase (Scientific Subcommittee "Criteria on Lupus Anticoagulants and Phospholipid-dependent Antibodies") hat empfohlen, zum diagnostischen Nachweis von LA einen Gerinnungs-Screening-Test und einen Bestätigungstests mit hoher Phospholipid-Konzentration einzusetzen.⁵ BioMedica Diagnostics hat den DVVtest als einen Screening-Test und dazugehörig den DVVconfirm als Bestätigungstest mit hoher Phospholipidkonzentration entwickelt. DVVtest und DVVconfirm sind in ihrer Zusammensetzung so optimiert, daß bei hoher Empfindlichkeit und Spezifität für LA der Einfluß von Heparin gering ist.¹⁴

PRINZIP DER METHODE

Das DVVtest Reagenz enthält Aktivator aus isoliert aus das Gift der Russell-Viper, welches in Plasma bei Anwesenheit von Phospholipiden und Calcium zur direkten Aktivierung des Faktor X zu Faktor Xa führt. Faktor Xa spaltet Prothrombin zu Thrombin, welches den Umsatz von Fibrinogen in Fibrin und schließlich die Gerinnungsbildung verursacht. Dieser direkte Aktivierungsweg ist unabhängig von den Faktoren der

intrinsischen und extrinsischen Gerinnungsaktivierung und wird demgemäß durch Defizienzen der Faktoren VIII, IX, XI und XII sowie durch deren Inhibitoren nicht beeinflusst. Ein positiver DVVtest ist gegeben bei einer signifikanten Verlängerung der Phospholipid-abhängigen Gerinnungszeit (> 2 Standardabweichungen über dem laborinternen Mittelwert des Normbereichs). DVVtest hat aufgrund der optimierter Verdünnung und Art der verwendeten Phospholipide eine erhöhte Sensitivität und Spezifität für LA; bei einem Verdacht auf LA sollte der DVVtest auch bei normaler aPTT durchgeführt werden.⁶

DVVconfirm enthält neben dem Gift der Russell-Viper eine hohe Phospholipid-Konzentration und ist im Zusammenhang mit dem DVVtest für die Bestätigung von LA in Patientenplasmen vorgesehen⁷. Bei Anwesenheit von LA ist die Gerinnungszeit einer Plasmaprobe im DVVconfirm signifikant kürzer als im DVVtest. Die Anwesenheit von LA in Plasmaproben wird bestätigt wenn der Quotient aus der DVVtest und DVVconfirm Gerinnungszeit größer als der laborinterne Normbereich (Mittelwert des DVVtest/DVVconfirm Quotienten ± 2 Standardabweichungen).




REAGENZIEN

DVVtest und DVVconfirm Reagenzien werden lyophilisiert geliefert und bestehen aus einer Mischung Aktivator aus isoliert aus dem Gift der Russell Viper, Calcium, Phospholipiden, inerten Zusätze und Konservierungsmittel. Der Inhalt nicht geöffneter Fläschchen ist bei einer Lagerung zwischen 2° - 8°C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum stabil.

Die DVVtest Reagenzien gibt es in zwei Packungsgrößen: REF 810 besteht aus 10 Fläschchen, jedes Fläschchen ist ausreichend für 20 Bestimmungen unter Verwendung der meisten automatischen Methoden; REF 825 besteht aus 10 Fläschchen, jedes Fläschchen ist ausreichend für 50 Bestimmungen unter Verwendung der meisten automatischen Methoden.

The DVVconfirm Reagenzien gibt es in zwei Packungsgrößen: REF 815 besteht aus 10 Fläschchen, jedes Fläschchen ist ausreichend für 10 Bestimmungen unter Verwendung der meisten automatischen Methoden; REF 815L besteht aus 10 Fläschchen, jedes Fläschchen ist ausreichend für 20 Bestimmungen unter Verwendung der meisten automatischen Methoden.

WARNHINWEIS

DVVtest®	Achtung		H319, H412, P264, P273, P280, P305 + P351 + P338, P337+P313
DVVconfirm®	Gefahr	 	CONT Imidazole H315, H318, H360, H412, P202, P280, P273, P302 + P352, P332 + P313, P305 + P351 + P338

H315 Verursacht Hautreizungen.

H318 Verursacht schwere Augenschäden.

H319 Verursacht schwere Augenreizung.

H360 Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen.

H412 Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.

P202 Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.

P264 Nach Gebrauch gründlich waschen.

P273 Freisetzung in die Umwelt vermeiden.

P280 Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.

P302 + P352 BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen.

P305 + P351 + P338 BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen.

Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.

P332 + P313 Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

P337 + P313 Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

PROBENTNAHME UND -VORBEREITUNG

Blutproben können mit einer Spritze oder unter Vakuum mit silikonisierten Röhrchen entnommen werden. 9 Teile Blut werden mit 1 Teil 3,2% oder 3,8% (109mM bzw. 129 mM) Trinatrium-Zitrat 2 Hydrat gemischt. Bei einem Hämatokrit von über 55 % kann die Genauigkeit des DVVtest und DVVconfirm beeinträchtigt sein; eine Anpassung des Verhältnisses zwischen Blut und Antikoagulanz kann dann erforderlich sein.⁸ Nach Mischen der Blutprobe ist diese zur Entfernung der Thrombozyten für 10 Minuten bei mindestens 5000 x g zu zentrifugieren. Die Thrombozyten können auch durch Filtration des Plasmas (Porengröße 0.22 µm) entfernt werden.⁹ Es ist unbedingt erforderlich, daß plättchenarme Plasmen (Plättchenzahl < 10⁴/µL) zum Einsatz kommen, insbesondere wenn Plasmen vor dem Test eingefroren gelagert werden. Andernfalls kann der Test durch die Freisetzung von Phospholipiden aus den zerstörten Thrombozyten gestört werden, so daß der Nachweis von LA beeinträchtigt wird.⁵ Vor dem Test kann das plättchenarme Plasma dann bei 2°- 8°C bis zu 4 Stunden gelagert werden; innerhalb dieser Zeit sollte der Test durchgeführt werden. Alternativ kann das Plasma unverzüglich eingefroren und dann bei -70°C bis zu 6 Monate gelagert werden. Gefrorene Plasmaproben müssen bei 37°C rasch aufgetaut und dann entweder sofort oder - wenn die Lagerung bei 2°- 8°C erfolgt - innerhalb von 2 Stunden getestet werden⁸.

NOTWENDIGE MATERIALIEN, DIE NICHT GELIEFERT WERDEN

LArol™ Abnormale Kontrolle Plasmen (REF 816A) und Normal Kontrolle Plasmen (REF 816N)¹⁰ oder äquivalente Kontrollplasmen

Geeichte Pipetten im Bereich von 100 µL – 5000 µL



Gereinigtes deionisiertes oder destilliertes Wasser

VORBEREITUNG DES REAGENZ UND STABILITÄT

BEACHTEN SIE: Das DVVconfirm Lyophilisat hat ein pulveriges Erscheinungsbild, das DVVtest Lyophilisat kann ein kristallines Erscheinungsbild aufweisen. Rekonstituieren Sie jedes Fläschchen mit gereinigtem deionisiertem oder destilliertem Wasser entsprechend der Beschriftung des Etiketts:

REF	810	825	815	815L
Volumen H ₂ O	2.0 mL	5.0 mL	1.0 mL	2.0 mL

Nach Zusatz des Wassers wird das Reagenz gut gemischt und zur vollständigen Lösung für mindestens 15 Minuten bei Raumtemperatur belassen. Nach Rekonstitution ist das Reagenz wie folgt stabil:

	24 Stunden	5 Tage	1 Monat
	20°- 25°C	2°- 8°C	-20°C

Das Reagenz kann aus Vorratsbehältern von Analysegeräten zurückgewonnen werden, wenn es nicht länger als 24 Stunden bei Raumtemperatur gelagert wurde. Rekonstituiertes Reagenz kann in Plastikröhrchen eingefroren werden, um seine Stabilität zu gewährleisten. Das Reagenz sollte 10 Minuten bei 37°C aufgetaut und dann gut gemischt werden (vortexen).

TESTDURCHFÜHRUNG

DVVtest und DVVconfirm können manuell durchgeführt werden, oder indem halbautomatische oder automatisierte Gerinnungsanalysatoren verwendet werden.

Gleiche Volumina des Reagenz und der Plasmaprobe, z.B. je 100 µl DVVtest oder DVVconfirm Reagenz und 100 µl Testplasma, sollten eingesetzt werden. Sowohl das Reagenz als auch das Probenplasma sollten vor dem Test für zwei Minuten bei 37°C vorinkubiert werden. Das Reagenz muß vor Zugabe zu dem Plasma gut gemischt werden. DVVtest und DVVconfirm Ergebnisse werden in Zeiteinheiten (Sekunden) mitgeteilt. LATrol (REF 816N) kann als Normalplasmakontrolle für den DVVtest oder DVVconfirm eingesetzt werden. (Siehe: Testinterpretation und Befundmitteilung). In dem Reagenzienreservoir sollten magnetische Rührfische eingesetzt werden und die Reagenzienzuführung sollte, falls möglich, über separate Reagenzienschläuche erfolgen. Nach dem Reagenziendurchsatz sollten geeignete Spül- und/oder Waschvorgänge durchgeführt werden (insbesondere bei Instrumenten, die nicht über separate Reagenzienschläuche verfügen), bevor andere Gerinnungstests oder chromogene Tests durchgeführt werden.

BioMedica Diagnostics bietet Instrumentenanwendungen für mehrere gerinnungsanalysatoren an. Diese Instrumentenanwendungen können plattformspezifische programmier und leistungsdaten enthalten, die von den in dieser gebrauchsanweisung angegebenen abweichen. In diesen fällen ersetzen die in der Instrumentenanwendung enthaltenen informationen die informationen in dieser gebrauchsanweisung. Die vollständige bedienungsanleitung finden sie in der Instrumentenanleitung des jeweiligen herstellers.

QUALITÄTSKONTROLLE

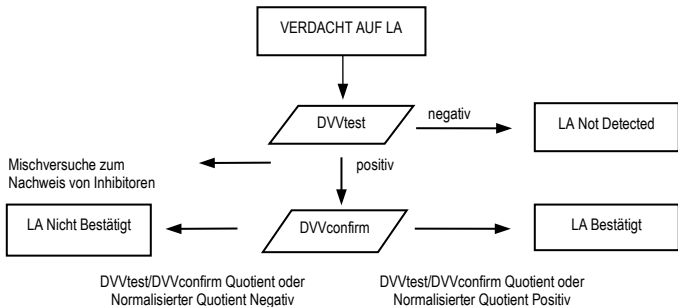
Bei jeder Untersuchungsreihe ist eine normale und eine pathologische Kontrolle mitzuführen, auch bei Personal- oder Schichtwechsel und bei jeder 40. Probe¹¹. Die Kontrollplasmen müssen plättchenarm mit einer Thrombozytenzahl $< 10^4/\mu\text{L}$ sein. LATrol Abnormale und Normal Kontrollplasmen (REF 816A und 816N)¹⁰ können verwendet werden. Die Normal- und Abnormale-Kontrollen sollten Testergebnisse im laborinternen Sollbereich liefern, bevor Patientenproben getestet werden⁸.

REFERENZBEREICH

Jedes Laboratorium sollte seinen eigenen DVVtest und DVVconfirm Referenzbereich (Normbereich; Mittelwert ± 2 Standardabweichungen) ermitteln. Hierfür sind Plasmen von mindestens 20 gesunden Probanden (ungefähr gleiche Anzahl erwachsener weiblicher und männlicher Personen; siehe ERWARTETE WERTE) einzusetzen.⁸ Bei der Erstellung des Normbereichs sind die Proben exakt so zu bearbeiten wie die späteren Testproben. Falls unter Routinebedingungen nur vorher eingefrorene Plasmaproben zum Einsatz kommen, sollte auch der Normbereich mit vorher gefrorenen Proben ermittelt werden. Bei der Ermittlung des Normbereichs als auch bei der Testung von Patientenproben sollten entweder nur vorher eingefrorene oder nur frisch präparierte Plasmen eingesetzt werden. Der Referenzbereich muß immer dann erneut ermittelt werden, wenn die Reagenziencharge oder das Instrument gewechselt werden. Ansonsten sollte der Referenzbereich mindestens einmal im Jahr ermittelt werden. Die Daten sollten über mehrere Tage gewonnen werden, um auch die Variabilität zwischen verschiedenen Testserien („Interassay-Variabilität“) zu erfassen.

TESTINTERPRETATION UND BEFUNDMITTEILUNG

Flussdiagramm zur Bestätigung von LA



DVVtest Ergebnisse:

Falls das Patientenplasma ein Ergebnis innerhalb des laborinternen Normbereichs des DVVtest (Mittelwert \pm 2 Standardabweichungen) liefert, dann ist der Test negativ für LA. Falls das Patientenplasma ein Ergebnis liefert, welches über dem Normbereich des DVVtest liegt, dann ist der Test positiv für LA.

BITTE BEACHTEN SIE: Ein positiver DVVtest weist darauf hin, dass in dem Plasma entweder LA oder ein Defekt der Faktoren II, V oder X vorliegt. Bei einem positiven DVVtest muß das Vorhandensein von LA durch eine erneute Testung des Plasmas im DVVconfirm bestätigt werden (s.u.). DVVconfirm sollte am selben Tag wie der DVVtest und mit demselben Patientenplasma durchgeführt werden. Evtl. bestehende Faktorendefekten sollten durch Mischversuche abgeklärt werden.

DVVconfirm Ergebnisse:

Falls das Patientenplasma im DVVtest positiv getestet wurde, dann sollte der DVVconfirm Test durchgeführt werden. Die Befunde des DVVconfirm können entweder als DVVtest/DVVconfirm-Quotient oder als Normalisierter Quotient mitgeteilt werden:

1) Der DVVtest/DVVconfirm Quotient wird berechnet indem die ermittelte Gerinnungszeit (in Sekunden) des DVVtest durch die ermittelte Gerinnungszeit des DVVconfirm geteilt wird:

$$\text{DVVtest/DVVconfirm Quotient} = \text{DVVtest (sek)} \div \text{DVVconfirm (sek)}$$

Ein Normbereich des DVVtest/DVVconfirm-Quotienten muss mit Normalplasmen erstellt werden. Ein positives Ergebnisse für LA liegt vor wenn der DVVtest/DVVconfirm-Quotient des Patientenplasmas mehr als 2 Standardabweichungen über dem laborinternen Nomwert für den DVVtest/DVVconfirm-Quotienten liegt. Wenn der DVVtest/DVVconfirm-Quotient innerhalb des Normbereichs für den Quotienten liegt, dann liegt ein negatives Testergebnis vor und andere Störungen müssen angenommen werden.

2) Der Normalisierte Quotient wird wie folgt berechnet:

$$\text{Normal. Quotient} = \frac{\text{DVVtest (Probe)} \div \text{DVVtest (Mittelwert Normbereich)}}{\text{DVVconfirm (Probe)} \div \text{DVVconfirm (Mittelwert Normbereich)}}$$

Beispiel:	Probe DVVtest:	58.9 Sekunden
	Probe DVVconfirm:	32.2 Sekunden
	Mittelwert Normbereich DVVtest:	35.8 Sekunden
	Mittelwert Normbereich DVVconfirm:	32.8 Sekunden

$$\text{Normalisierter Quotient} = \frac{58.9 \div 35.8}{32.2 \div 32.8} = \frac{1.64}{0.98} = 1.67$$

Interpretation der Ergebnisse des Normalisierten Quotienten

Normal. Quotient	LA Status
> 2.0	LA stark positiv
1.5 to 2.0	LA positiv
1.2 to 1.5	LA schwach positiv

Die Befunde können entweder als „positiv/negativ“ für Lupus-Antikoagulans oder als DVVtest/DVVconfirm-Quotient oder als Normalisierter Quotient mitgeteilt werden. Bei der Befundmitteilung als Quotient sollte der Referenzbereich ebenfalls mitgeteilt werden.

ERWARTETE WERTE

Normbereich (± 2 Standardabweichungen)¹²

INSTRUMENT:	MLA 1000C	ST4	ACL 300*
DVVtest Zeit (sek)	28 – 45	29 - 51	28 – 47
DVVconfirm Zeit (sek)	30 – 44	21 - 46	28 – 40
DVVtest/DVVconfirm Quotient	0.77 – 1.21	0.95 - 1.47	0.83 - 1.35
N	21	25	20

Normbereiche wurden bei BioMedica Diagnostics, in Übereinstimmung mit dem CLSI Dokument H21-A5 ermittelt.⁸ Normalpersonen waren erwachsene Männer und Frauen mit normalen Werten für PT und aPTT.

Diese Ergebnisse sollen nur als Beispiel dienen. Ergebnisse variieren von Labor zu Labor. Deshalb muß jedes Labor den eigenen laborinternen Normbereich für alle verwendeten Instrumente und Methoden selbst erstellen.

INTERFERIERENDE SUBSTANZEN

Proben, die im Verdacht stehen Inhibitoren von Faktor II, V oder X zu enthalten, können falsch positive Ergebnisse liefern. Wenn die untersuchten Plasmen hohe Konzentrationen von Faktor VIII (> 200%) enthalten, kann der DVVtest die Anwesenheit von LA nicht detektieren und falsch negative Ergebnisse liefern.¹²

Orale Antikoagulanzen und andere Vitamin K Antagonisten können die DVVtest und DVVconfirm Gerinnungszeiten verlängern. Im Jahr 2006, wurden die Klassifizierungs-Kriterien für Antiphospholipid Syndrom (APS) aktualisiert.¹³ Die Aktualisierung empfiehlt bei Patienten die orale Antikoagulantien erhalten, dass das Patientenplasma vor der Testdurchführung 1:2 mit Normalplasma (1 Teil Patientenplasma + 1 Teil Normalplasma) verdünnt werden soll. Voraussetzung ist, daß der INR-Wert (international normalized ratio) <3,5 ist. Wenn der INR-Wert > 3,5 ist, sollte keine LA Testung versucht werden.

Wenn nicht bekannt ist, ob der Patient orale Antikoagulantien einnimmt, müssen die Ergebnisse des DVVconfirm ganz genau betrachtet werden. Wenn der DVVconfirm keine signifikante Korrektur (kürzere Gerinnungszeit) im Vergleich zum DVVtest zeigt und die Zeit im Vergleich zum DVVconfirm von Normalplasma verlängert ist, spricht dies für das Vorhandensein von oralen Antikoagulantien. In diesem Fall sollte das Patientenplasma 1:2 mit Normalplasma verdünnt werden und der DVVtest erneut durchgeführt werden. Wenn die DVVtest Gerinnungszeit immer noch verlängert ist, sollte der DVVconfirm ebenfalls mit dem 1:2 verdünnten Plasma durchgeführt werden um zu überprüfen, ob die DVVtest Ergebnisse Phospholipid-abhängig sind.

DVVtest und DVVconfirm enthalten Komponenten, die unfraktioniertes Heparin bis zu 1.0 U/mL neutralisieren. Plasmen mit einem Heparinspiegel über 1.0 U/mL können erhöhte Testergebnisse liefern. Einige niedermolekulare Heparine (LMWH) können mit dem DVVtest interferieren. Studien haben gezeigt, dass mit 2.0 units/mL Fragmin® (Dalteparin-Natrium Injektion) versetztes Plasma nicht mit dem Test interferiert. Plasma versetzt mit >0,25 units/ml Lovenox® (Enoxaparin-Natrium Injektion) interferiert mit den Testergebnissen.¹²

EINSCHRÄNKUNGEN DES VERFAHRENS

Verwenden Sie keine hämolytischen, lipämischen oder ikterischen Blutproben. Blutproben mit Verdacht auf Defizienzen der Faktoren II, V, oder X sollten in Mischversuchen geprüft werden.

Blutproben sollten mit einem weiteren LA Gerinnungstest getestet werden, da mit Hilfe eines einzigen LA Tests keine absoluter Nachweis auf das Vorhandensein von LA geführt werden kann.⁵

KENNDATEN DES TESTS

Präzision

Der DVVtest und DVVconfirm Test wurden einer Qualitätskontrolle bei BioMedica Diagnostics und bei zwei unabhängigen Laboratorien unterzogen. Der Gesamtvariationskoeffizient für Normalplasmen lag unter 4.0% für DVVtest und unter 5.0% für DVVconfirm. Für Plasmen mit pathologischen Werten ergab sich ein Gesamtvariationskoeffizient von unter 6.5% für DVVtest und unter 5.0% für DVVconfirm.¹²

Richtigkeit

DVVtest und DVVconfirm wurden mit normalen und pathologischen Plasmen getestet und folgende Ergebnisse erzielt:¹²

Plasmaprobe	Positiver DVVtest/DVVconfirm-Quotient
LA-positive Plasmen	100% (17/17)
Normalplasmen	2.1% (2/96)
Heparinhaltige Plasmen	0% (0/2)
Faktordefiziente Plasmen	0% (0/8)
Faktor VIII Inhibitor positive Plasmen	0% (0/2)

LITERATUR

1. Harris, E. N., Asherson, R. A., and Hughes, G. R. V. Antiphospholipid antibodies - autoantibodies with a difference. *Ann Revs Med* 1988, **39**: 261-271.
2. Conley, C. L and Hartmann, R. C. A hemorrhagic disorder caused by a circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1952, **31**: 621-622.

3. Triplett, D. A., Brandt, J. T. and Maas, R. L. The laboratory heterogeneity of lupus anticoagulants. *Arch Path Lab Med* 1985, **109**: 946-951.
4. Thiagarajan, P., Shapiro, S. S. and DeMarco L. Monoclonal immunoglobulin M lambda coagulation inhibitor with phospholipid specificity: Mechanism of a lupus anticoagulant. *J Clin Invest* 1980, **66**: 397-405.
5. Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, de Groot PG. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J Thromb Haemost* 2009; **7**: 1737–40.
6. Exner, T., Papadopoulos, G. and Koutts, J. Use of a simplified dilute Russell viper venom time (dRVVT) confirms heterogeneity among 'Lupus Anticoagulants.' *Blood Coag Fibrinol* 1990, **1**: 259-266.
7. Thiagarajan, P., Pengo, V. and Shapiro, S. S. The use of the dilute Russell viper venom time for the diagnosis of lupus anticoagulants. *Blood* 1986, **68**: 869-874.
8. CLSI. *Collection, transport and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays – 5th Edition*. CLSI document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
9. Brandt, J. T. "Q & A". *CAP Today*, August 1992; Page 61.
10. Erhältlich über BioMedica Diagnostics, or your local distributor.
11. Passey, R. B. Walking the straight and narrow on quality control. *MLO* 1993, **2**: 39-43.
12. Daten verfügbar bei BioMedica Diagnostics
13. Miyakis, S., *et al.* International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2006, **4**: 295-306.
14. CLSI. *Laboratory Testing for the Lupus Anticoagulant; Approved Guideline*. CLSI document H60-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.

ZUSAMMENFASSUNG DER SICHERHEIT UND KLINISCHE LEISTUNG

Die Zusammenfassung der Sicherheit und klinischen Leistung (SCCP) ist in der European Database on Medical Devices (Eudamed) unter <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> unter der folgenden Basic UDI-DI (GMN) verfügbar:

REF 810 0062794400205C

REF 815 0062794400215E

REF 825 0062794400255N

REF 815L 0062794400315H

FRANCAIS

UTILISATION

DVVtest[®] est un test Russell's Viper Venom Time (dRVVT) dilué en une seule étape destiné à la détermination de la présence d'anticoagulants lupiques (LA) dans le plasma humain. Le test DVV peut être effectué manuellement ou à l'aide d'analyseurs de coagulation semi-automatisés ou automatisés. Le réactif est destiné à un usage diagnostique in vitro.

DVVconfirm[®] est un test Russell's Viper Venom Time (dRVVT) dilué en une seule étape destiné à la détermination de la présence d'anticoagulants lupiques (LA) dans le plasma humain. DVVconfirm peut être effectué manuellement ou à l'aide d'analyseurs de coagulation semi-automatisés ou automatisés. Le réactif est destiné à un usage diagnostique in vitro.

EXPLICATION DU TEST

L'identification du Lupus Anticoagulant (LA) dans le plasma est un marqueur diagnostique du syndrome des antiphospholipides (Antiphospholipid Syndrome, APS) dont les signes cliniques peuvent être caractérisés par une thrombose artérielle/veineuse, des avortements spontanés récurrents, une thrombopénie et/ou des troubles neurologiques.¹ Le LA peut également être induit par l'administration de chlorpromazine, de procainamide, de thiorazine et de certains antibiotiques. En 1952, Conley et Hartmann² ont décrit pour la première fois la présence de LA chez des patients souffrant de lupus érythémateux systémique (SLE). Il est maintenant généralement admis que le LA est détecté plus fréquemment chez les patients ne souffrant pas de SLE.³ Les autoanticorps LA sont spécifiquement dirigés contre un groupe de protéines se liant aux phospholipides et comprenant la β 2-glycoprotéine I (β 2GPI), la prothrombine et l'annexine V, qui se complexent à différents phospholipides anioniques (comme par exemple la cardiolipine, l'acide phosphatidique et la phosphatidylsérine⁴). Les anticoagulants lupiques sont des immunoglobulines d'isotypes IgG, IgM et IgA qui prolongent in vitro certains des tests de coagulation des phospholipides dépendants (comme par exemple le temps de céphaline activé (TCA), le taux de prothrombine dilué (dPT), le temps de textarine ou le dRVVT). Le sous-comité scientifique de standardisation des anticoagulants lupiques et des anticorps "phospholipides dépendants" de la "International Society for Thrombosis and Hemostasis" a recommandé de diagnostiquer les LA par des tests de coagulation pour le screening et par un test de confirmation utilisant une forte concentration de phospholipides.⁵ BioMedica Diagnostics a mis au point le DVVtest comme test de première intention pour le screening du LA et le DVVconfirm comme test complémentaire utilisant une forte concentration de phospholipides pour la confirmation. Le DVVtest et le DVVconfirm ont une composition permettant de minimiser l'effet de l'héparine afin de cibler au maximum la sensibilité et la spécificité pour le diagnostic du LA.¹⁴

PRINCIPE DE LA METHODE

Activateur isolé du venin de vipère Russell active directement le facteur X en facteur Xa en présence de phospholipides et de calcium, ce qui génère de la thrombine et entraîne la formation d'un caillot visible dans le plasma. Cette activation directe permet de contourner les facteurs de la phase contact et intrinsèques de la cascade de la coagulation, et est insensible aux déficits en facteurs VIII, IX, XI et XII ou de leurs inhibiteurs respectifs. En présence d'une suspicion de LA, le DVVtest peut être réalisé même si le TCA est normal, car la concentration et le type de phospholipides du réactif permettent d'augmenter la sensibilité et la spécificité du test au LA.⁶

Le DVVconfirm confirme la présence de LA grâce à l'utilisation des mêmes réactifs que le DVVtest mais avec une concentration plus élevée de phospholipides.⁷ Cela permet de corriger l'allongement du temps de coagulation induit par la présence de LA. En présence de LA, le temps de coagulation du DVVconfirm est plus court que celui du DVVtest. Le test est considéré comme positif pour la présence de LA quand le rapport DVVtest / DVVconfirm est \geq à la zone de référence établie par le laboratoire (moyenne + 2 E.T.).

RÉACTIFS



Les réactifs DVVtest et DVVconfirm se présentent sous forme lyophilisée et contiennent un mélange original d'activateur isolé du venin de vipère Russell, de calcium et de phospholipides, stabilisé par des adjuvants inertes et des conservateurs. Conservés à 2° - 8°C et avant ouverture, les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le flacon.

Les réactifs DVVtest sont proposés en 2 conditionnements: La référence 810 contient 10 flacons, chaque flacon contenant les réactifs nécessaires pour 10 tests par méthode manuelle ou pour 20 tests par la plupart des

méthodes automatiques. La référence 825 contient 10 flacons, chaque flacon contenant les réactifs nécessaires pour 25 tests par méthode manuelle ou pour 50 tests par la plupart des méthodes automatiques.

Les réactifs DVVconfirm sont proposés en 2 conditionnements: La référence 815 contient 10 flacons, chaque flacon contenant les réactifs nécessaires pour 5 tests par méthode manuelle ou pour 10 tests par la plupart des méthodes automatiques. La référence 815L contient 10 flacons, chaque flacon contenant les réactifs nécessaires pour 10 tests par méthode manuelle ou pour 20 tests par la plupart des méthodes automatiques.

AVERTISSEMENT

DVVtest®	attention		H319, H412, P264, P273, P280, P305 + P351 + P338, P337 + P313		
DVVconfirm®	danger		<table border="1"><tr><td>CONT</td><td>Imidazole</td></tr></table> H315, H318, H360, H412, P202, P280, P273, P302 + P352, P332 + P313, P305 + P351 + P338	CONT	Imidazole
CONT	Imidazole				

H315 Provoque une irritation cutanée.

H318 Provoque des lésions oculaires graves.

H319 Provoque une sévère irritation des yeux.

H360 Peut nuire à la fertilité ou au fœtus.

H412 Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

P202 Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité.

P264 Se laver soigneusement après manipulation.

P273 Éviter le rejet dans l'environnement.

P280 Porter des gants de protection/des vêtements /un équipement de protection des yeux/ du visage.

P302 + P352 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: laver abondamment à l'eau et au savon.

P305 + P351 + P338 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

P332 + P313 En cas d'irritation cutanée: consulter un médecin.

P337 + P313 Si l'irritation oculaire persiste: consulter un médecin.

RECUEIL ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Mélanger neuf volumes de sang et un volume de la forme dihydratée de citrate trisodique à 3,2 ou 3,8% (109 ou 129 mM). Si le taux d'hématocrite du patient est supérieur à 55%, les résultats des tests DVVtest et DVVconfirm peuvent être erronés et il est alors nécessaire d'effectuer un réajustement du sang à un anticoagulant de ratio.⁸ Après mélange avec l'anticoagulant, centrifuger le sang pendant 10 mn à au moins 5000g. Le plasma normal et les plasmas de contrôle utilisés dans ces tests doivent être impérativement pauvres en plaquettes ($< 10^4$ plaquettes/ μ L), plus particulièrement avant congélation car une forte quantité de plaquettes résiduelles pourrait masquer la présence de LA⁵. L'élimination des plaquettes peut être réalisée soit par double centrifugation, soit par filtration du plasma sur filtre de $0.22 \mu\text{m}^9$. Les échantillons ainsi préparés, peuvent être conservés à 2°- 8°C et doivent être testés dans les 4 heures. Les plasmas peuvent également être congelés rapidement à -70°C et sont alors stables pendant 6 mois. Les plasmas congelés doivent être rapidement décongelés à 37°C avant utilisation et être testés immédiatement ou dans les 2 heures suivantes s'ils sont conservés à 2°- 8°C.⁸

MATÉRIEL NÉCESSAIRE ET NON FOURNI

LAtrol™: Plasma de contrôle anormal et normal (REF 816A ou 816N)¹⁰

Pipettes délivrant des volumes de 100 μ L à 5,0 mL

Eau distillée ou déminéralisée



PRÉPARATION DES RÉACTIFS ET STABILITE

REMARQUE: Le lyophilisat de DVVconfirm a un aspect poudreux; par contre, le lyophilisat de DVVtest peut avoir un aspect cristallin.

Reconstituer chaque flacon de réactif avec de l'eau distillée ou déminéralisée conformément aux instructions figurant sur l'étiquette.

REF	810	825	815	815L
Volume H ₂ O	2,0 mL	5,0 mL	1,0 mL	2,0 mL

Bien mélanger le réactif et le laisser stabiliser à température ambiante pendant au moins 15 minutes afin de permettre une totale dissolution. Une fois reconstitué, le réactif est stable pendant:

	24 heures	5 jours	1 mois
	de 20°- 25°C	de 2°- 8°C	-20°C

Les réactifs reconstitués peuvent être laissés en place dans l'instrument de mesure jusqu'à 24H à température ambiante, à condition que la température n'excède pas les valeurs indiquées. Le réactif reconstitué peut être congelé et stocké en tubes plastiques pour assurer sa stabilité.

Les plasmas et les réactifs conservés à 2°- 8°C doivent être placés au bain-marie à 37°C, 10 mn au moins avant utilisation.

MODE OPÉRATOIRE

DVVtest et DVVconfirm peuvent être effectués manuellement, ou en utilisant des analyseurs de coagulation semi-automatisés ou automatisés.

Le programme sélectionné sur l'instrument devra permettre de distribuer un même volume d'échantillon à tester et de réactif (ex : 100 µL de DVVtest ou DVVconfirm et 100 µL d'échantillon). Le plasma et le réactif doivent être préincubés à 37°C pendant au moins 2 minutes avant d'effectuer le test. Bien homogénéiser le réactif avant de l'ajouter au l'instrument. Le temps de coagulation du DVVtest de ce pool de plasmas normaux servira pour l'interprétation des résultats de l'échantillon à doser. Comme pour les méthodes manuelles et semi-automatiques déjà décrites, un échantillon de pool de plasmas normaux ou de LAtrol (REF 816N) devra être testé dans chaque série de dosages. Utiliser les circuits de réactifs spécifiques propres à chaque appareil et mettre un barreau magnétique dans le réservoir à réactifs quand cela est possible. Effectuer complètement la procédure de lavage et/ou de rinçage après avoir utilisé ces réactifs, en particulier sur les automates ne possédant pas de circuits réactifs spécifiques, avant de réaliser d'autres tests de coagulation ou chromogéniques.

BioMedica Diagnostics propose des applications d'instruments pour plusieurs analyseurs de coagulation. Ces applications d'instruments peuvent contenir des données de programmation et de performance spécifiques à la plate-forme qui diffèrent de celles fournies dans ce mode d'emploi. Dans ces cas, les informations contenues dans l'application de l'instrument remplacent les informations contenues dans ce mode d'emploi. Veuillez consulter le manuel de l'instrument du fabricant spécifique pour les instructions de fonctionnement complètes.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

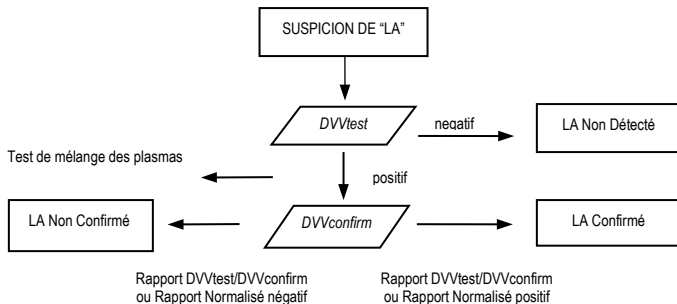
Les plasmas de contrôle LA normaux et anormaux doivent être testés pour chaque série d'analyses, à chaque changement de personnel ou d'équipe de travail et tous les 40 échantillons.¹¹ Les plasmas de contrôle doivent être pauvres en plaquettes et contenir moins de 10^4 plaquettes/ μL . Les plasmas de contrôle anormal et normal (REF 816A et 816N)¹⁰ du LAtrol pour le LA peuvent être utilisés comme contrôle de qualité. Les valeurs obtenues pour ces plasmas doivent être situées dans la zone de valeurs de contrôle établie par le laboratoire.⁸

DETERMINATION DE LA ZONE NORMALE DE REFERENCE

Chaque laboratoire doit établir sa propre zone de référence (valeur moyenne \pm 2 E.T.) pour les tests DVVtest et DVVconfirm. Un minimum de 20 donneurs sains (hommes et femmes représentatifs de l'âge adulte) doit être utilisé pour définir cette zone (voir VALEURS ATTENDUES).⁸ Les plasmas normaux doivent être évalués dans les mêmes conditions que les plasmas à tester (frais ou congelés). Si uniquement des plasmas congelés sont utilisés, la zone de référence doit être établie à partir de plasmas congelés. Il est déconseillé de tester des populations mixtes de plasmas provenant à la fois d'échantillons frais et congelés pour déterminer les zones de référence ou réaliser des tests de routine. Il est conseillé d'établir une nouvelle zone de référence normale au minimum une fois par an, à chaque changement de lot de réactif, ou d'instruments. Afin de déterminer les variations journalières, analyser les données recueillies sur plusieurs jours.

INTERPRÉTATION ET RENDU DES RÉSULTATS

Arbre décisionnel pour la recherche du LA



Interprétation du *DVVtest*

Dans la mesure où la durée du DVVtest de l'échantillon des plasma est à l'intérieur de la plage de référence normale établie par le laboratoire (moyenne \pm 2 S.D.), le test est réputé négatif au LA. Si la durée du DVVtest de l'échantillon de plasma est supérieure à 2 S.D. au-dessus de la moyenne de la plage normale de référence, le test est positif au LA.

REMARQUE: Un DVVtest positif n'indique pas nécessairement qu'il y ait des LA ou bien que le plasma puisse contenir une déficience du facteur II, V ou X. Si le DVVtest est positif, il y a lieu de confirmer la présence de LA en retestant avec DVVconfirm afin d'obtenir un rapport entre DVVtest et DVVconfirm (voir ci-dessous). Le test DVVconfirm doit être effectué le même jour que le DVVtest et sur la même population de patients. Il faut effectuer des études mixtes afin de déterminer la présence d'une déficience de facteur.

Interprétation du DVVconfirm

Tout échantillon positif en DVVtest doit être vérifié en DVVconfirm. Les résultats obtenus avec le DVVconfirm peuvent être analysés soit en calculant le Rapport DVVtest/DVVconfirm ou le Rapport Normalisé.

1) Le Rapport DVVtest/DVVconfirm est exprimé par le rapport du temps de coagulation du DVVtest (en secondes) sur celui du DVVconfirm (en secondes):

$$\text{Rapport DVVtest/DVVconfirm} = \text{Temps du DVVtest (s)} / \text{Temps du DVVconfirm (s)}$$

Le Rapport DVVtest/DVVconfirm doit être déterminé pour les plasmas normaux de référence. Un rapport excédant de 2 E.T. la valeur normale établie par le laboratoire confirme la présence d'un LA positif. Si le Rapport DVVtest/DVVconfirm est dans la zone normale de référence établie par le laboratoire (rapport moyen \pm 2 E.T.) le test est alors négatif.

2) Le Rapport Normalisé se calcule de la façon suivante:

$$\text{Rapport Normalisé} = \frac{\text{DVVtest (échant.)}/\text{DVVtest (moy. norm. de réf.)}}{\text{DVVconfirm (échant.)}/\text{DVVconfirm (moy. norm. de réf.)}}$$

A titre d'exemple uniquement:

DVVtest Patient: 58,9 secondes

DVVconfirm Patient: 32,2 secondes

DVVtest Moyen: 35,8 secondes

DVVconfirm Moyen: 32,8 secondes

$$\text{Rapport Normalisé} = \frac{58.9 \div 35.8}{32.2 \div 32.8} = \frac{1.64}{0.98} = 1.67$$

Interprétation des résultats en fonction du RAPPORT NORMALISE

Rapport Normalisé	Situation du LA
> 2,0	Forte présence de LA
1,5 à 2,0	Présence modérée de LA
1,2 à 1,5	Faible présence de LA

Les résultats des tests peuvent être rapportés comme étant soit positifs/négatifs en LA, ou bien exprimés par le Rapport DVVtest/DVVconfirm ou le Rapport Normalisé. Dans l'éventualité d'une expression des résultats par le Rapport, il doit également être fait mention des valeurs de la zone de référence.

VALEURS ATTENDUES:

Valeurs normales de référence (± 2 E.T.)¹²

INSTRUMENT:	MLA 1000C	ST4	ACL 300+
Temps <i>DVVtest</i> (sec.)	28 - 45	29 - 51	28 - 47
Temps <i>DVVconfirm</i> (sec.)	30 - 44	21 - 46	28 - 40
RAPPORT <i>DVVtest</i> / <i>DVVconfirm</i>	0,77 - 1,21	0,95 - 1,47	0,83 - 1,35
n	21	25	20

Les zones de référence ont été définies par BioMedica Diagnostics en conformité avec les instructions CLSI H21-A5.⁸ Les donneurs étaient des hommes et des femmes de 20 à 65 ans, ayant des valeurs normales du TP et du TCA.

Ces résultats ne sont mentionnés qu'à titre indicatif. Les résultats peuvent varier d'un laboratoire à l'autre et chaque site doit établir sa propre zone de référence pour la méthode et l'instrument utilisé.

INTERFERENCES

La présence d'inhibiteurs des facteurs II, V ou X dans les échantillons à doser peut donner des résultats faussement positifs.

Si le *DVVtest* est réalisé sur des plasmas contenant des niveaux élevés de facteur VIII (supérieurs à 200%), la présence de LA peut ne pas être détectée, et donner ainsi un résultat faussement négatif.¹²

Les anticoagulants oraux et autres antagonistes de la vitamine K peuvent allonger les temps de coagulation des tests DVVtest et DVVconfirm; toutefois, le calcul du ratio en l'absence de LA sera normal. En 2006, une mise à jour des critères de classification du syndrome des antiphospholipides (SAP) a été effectuée.¹³ Cette mise à jour concerne les traitements anticoagulants.

- Si l'INR (ratio international normalisé) est <3.5: l'échantillon plasmatique doit être dilué au 1/2 dans du plasma normal (1 volume du plasma de patient + 1 volume de plasma normal) avant d'effectuer le test.
- Si l'INR est > 3,5, le test de détection de LA n'est pas conseillé, car non fiable.

En l'absence de toute information concernant l'existence d'un traitement anticoagulant du patient, les résultats du test DVVconfirm doivent être interprétés avec précaution.

Si le résultat obtenu avec le DVVconfirm ne montre pas une correction significative du temps de coagulation (plus court) par rapport au DVVtest et qu'il reste allongé pour le plasma normal, alors la présence d'un anticoagulant oral est suspectée. Dans ce cas, l'échantillon du patient doit être mélangé au 1/2 avec le plasma normal et le test DVVtest doit être refait. Si le temps de coagulation obtenu avec le DVVtest est toujours allongé, le test DVVconfirm devra également être réalisé avec un mélange au 1/2 afin de confirmer si les résultats obtenus avec le DVVtest sont phospholipide-dépendants.

Les réactifs DVVtest et DVVconfirm contiennent des inhibiteurs capables de neutraliser jusqu'à 1,0 UI/ml d'héparine. Des concentrations d'héparine supérieures à 1,0 UI/ml dans les échantillons à doser peuvent donner des résultats élevés. Certaines héparines de bas poids moléculaire (HBPM) peuvent interférer avec le DVVtest.

- Pas d'interférence dans le dosage en présence de Fragmine® (daltéparine sodique injectable) jusqu'à 2 UI/ml.

- Interférence dans le dosage en présence Lovenox® (énoxaparine sodique injectable) à des concentrations supérieures à 0,25 UI/ml.¹²

LIMITES DE LA MÉTHODE

Ne pas utiliser des échantillons hémolysés, lipémiques ou ictériques sur des instruments à détection optique. Une méthode manuelle ou semi-automatique est alors conseillée.

Les temps de coagulation du DVVtest et du DVVconfirm peuvent être allongés chez les patients avec déficits en facteurs II, V ou X. Le rapport ne restera cependant anormal qu'en présence de LA.

Les échantillons doivent être analysés en utilisant au moins un autre test de coagulation pour le LA, car une seule analyse ne peut suffire pour la mise en évidence d'anticoagulants lupiques.⁵

CARACTÉRISTIQUES ET PERFORMANCES

Précision

Les tests DVVtest et DVVconfirm ont été effectués dans le cadre d'un programme de contrôle de qualité par BioMedica Diagnostics et par deux autres laboratoires indépendants. Le coefficient de variation (CV) obtenu sur les plasmas normaux était inférieur à 4,0% pour le DVVtest et à 5,0% pour le DVVconfirm. Pour les plasmas anormaux, le CV était inférieur à 6,5% pour le DVVtest et à 5,0% pour le DVVconfirm.¹²

Spécificité

Les réactifs du DVVtest et du DVVconfirm ont été testés¹² sur des plasmas normaux et anormaux.

Echantillon de Plasma	% DVVtest / DVVconfirm positifs
Plasma avec Lupus anticoagulant	100 % (17/17)
Plasmas normaux	2,1 % (2/96)
Plasmas héparinés	0 % (0/2)
Plasmas Déficients en facteurs	0 % (0/8)
Plasma avec inhibiteur du facteur VIII	0 % (0/2)

RÉSUMÉ DE LA SÉCURITÉ ET DES PERFORMANCES CLINIQUES

Le résumé de la sécurité et des performances cliniques (SCCP) est disponible dans la base de données européenne sur les dispositifs médicaux (Eudamed), à l'adresse <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> sous l'UDI-DI de base (GMN) suivant:

REF 810 0062794400205C

REF 815 0062794400215E

REF 825 0062794400255N

REF 815L 0062794400315H

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Harris, E. N., Asherson, R. A. and Hughes, G. R. V. Antiphospholipid antibodies - autoantibodies with a difference. *Ann Revs Med* 1988, **39**: 261-271.
2. Conley, C. L. and Hartmann, R. C. A hemorrhagic disorder caused by a circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1952, **31**: 621-622.
3. Triplett, D. A., Brandt, J. T. and Maas, R. L. The laboratory heterogeneity of lupus anticoagulants. *Arch Path Lab Med* 1985, **109**: 946-951.

4. Thiagarajan, P., Shapiro, S. S. and DeMarco, L. Monoclonal immunoglobulin M lambda coagulation inhibitor with phospholipid specificity: Mechanism of a lupus anticoagulant. *J Clin Invest* 1980, **66**: 397-405.
5. Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, de Groot PG. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J Thromb Haemost* 2009; **7**: 1737–40.
6. Exner, T., Papadopoulos, G. and Koutts, J. Use of a simplified dilute Russell viper venom time (dRVVT) confirms heterogeneity among 'Lupus Anticoagulants.' *Blood Coag Fibrinol* 1990, **1**: 259-266.
7. Thiagarajan, P., Pengo, V. and Shapiro, S. S. The use of the dilute Russell viper venom time for the diagnosis of lupus anticoagulants. *Blood* 1986, **68**: 869-874.
8. CLSI. *Collection, transport and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays – 5th Edition*. CLSI document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
9. Brandt, J. T. "Q & A". *CAP Today*, August 1992; Page 61.
10. Disponible chez BioMedica Diagnostics, ou votre distributeur local.
11. Passey, R. B. Walking the straight and narrow on quality control. *MLO* 1993, **2**: 39-43.
12. Documentation interne, BioMedica Diagnostics.
13. Miyakis, S., *et al.* International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2006, **4**: 295-306.
14. CLSI. *Laboratory Testing for the Lupus Anticoagulant; Approved Guideline*. CLSI document H60-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.

ITALIANO

UTILIZZO

DVVtest® è un test Russell's Viper Venom Time (dRVVT) diluito in un'unica fase destinato alla determinazione della presenza di Lupus Anticoagulants (LA) nel plasma umano. Il test DVV può essere eseguito manualmente o utilizzando analizzatori di coagulazione semiautomatici o automatizzati. Il reagente è per uso diagnostico in vitro.

DVVconfirm® è un test Russell's Viper Venom Time (dRVVT) diluito in un'unica fase destinato alla determinazione della presenza di Lupus Anticoagulants (LA) nel plasma umano. DVVconfirm può essere eseguito manualmente o utilizzando analizzatori di coagulazione semiautomatici o automatizzati. Il reagente è per uso diagnostico in vitro.

SPIEGAZIONE DEL TEST

L'identificazione della presenza nel plasma di Lupus Anticoagulant (LA) costituisce un criterio diagnostico della Sindrome da Anticorpi Antifosfolipidi (APS) che è caratterizzata da trombosi arteriose/venose, da ricorrente perdita fetale spontanea, da trombocitopenia e/o da disordini neurologici.¹ La comparsa di LA può essere indotta anche dalla assunzione di clorpromazina, procainamide, torazina e di alcuni antibiotici. Nel 1952, Conley e Hartmann² per primi descrissero la presenza di LA in pazienti affetti da Lupus Eritematoso Sistemico (LES). E' ora ampiamente accertato che il LA è più comunemente riscontrato in pazienti che non hanno il LES.³ Gli autoanticorpi LA sono specificatamente diretti contro una varietà di proteine legate a fosfolipidi tra cui la β 2-glicoproteina I (β 2GPI), la protrombina, e l'annessina V che sono complessate a differenti fosfolipidi anionici (ad es. cardiolipina, fosfatidilinositolo e fosfatidilserina⁴). Gli Anticoagulanti Lupici sono immunoglobuline

appartenenti agli isotipi IgG, IgM e IgA che prolungano uno o più test della coagulazione in cui sono coinvolti i fosfolipidi (ad es. il tempo di tromboplastina parziale attivato (APTT), il tempo di protrombina diluito (dPT), il tempo di textarina o dRVVT). L'ISTCH (International Society for Thrombosis and Hemostasis - Scientific Subcommittee Criteria on Lupus Anticoagulants and Phospholipid-dependent Antibodies) raccomanda che la diagnosi di LA venga raggiunta effettuando test di screening coagulativi e un test di conferma contenente una elevata concentrazione di fosfolipidi.⁵ BioMedica Diagnostics ha sviluppato il DVVtest come test di screening primario per la diagnosi di LA e il DVVconfirm come test ad elevato contenuto di fosfolipidi per la conferma della diagnosi di LA. DVVtest e DVVconfirm sono stati formulati per ridurre gli effetti dell'eparina e per ottimizzare la sensibilità e la specificità nella diagnosi di LA.¹⁴

PRINCIPIO DEL METODO

Il reagente DVVtest contiene attivatore isolato dal veleno di vipera Russell che attiva direttamente il FX a FXa in presenza di fosfolipidi e calcio. Il Fattore Xa attiva la protrombina a trombina che a sua volta converte il fibrinogeno in fibrina, portando così alla formazione del coagulo nel plasma. Questa attivazione diretta del Fattore X non coinvolge la fase di Contatto e la via Intrinseca della cascata coagulativa, rendendola così non soggetta ad interferenze dovute a carenze dei Fattori VIII, IX, XI e XII o dovute alla presenza dei loro rispettivi inibitori. La positività del DVVtest si manifesta con un significativo prolungamento del tempo di coagulazione dipendente dai fosfolipidi (> 2 Deviazioni Standard sopra la media di riferimento dei normali del laboratorio). Se si sospetta che un paziente possa avere il LA, il test di screening DVVtest può essere effettuato su campioni con APTT normale poiché la diluizione e il tipo di fosfolipidi contenuti nel reagente DVVtest aumentano la sensibilità e la specificità del test per gli anticoagulanti di tipo lupico.⁶

Il DVVconfirm è il test ad elevata concentrazione di fosfolipidi e viene utilizzato in accoppiamento al DVVtest per confermare la presenza di LA nel plasma.⁷ DVVconfirm contiene il veleno di vipera Russell ed una elevata

concentrazione di fosfolipidi. Il tempo di coagulazione di un plasma contenente LA dovrebbe essere significativamente più corto con DVVconfirm rispetto a DVVtest. La presenza nel plasma di LA è confermata quando il rapporto tra il tempo di coagulazione del DVVtest e il tempo di coagulazione del DVVconfirm è maggiore dell'intervallo di normalità del laboratorio calcolato sul rapporto DVVtest/DVVconfirm (rapporto normale medio (2 DS)).



REAGENTI

DVVtest e DVVconfirm sono reagenti liofilizzati e sono costituiti da una appropriata miscela attivatore isolate dal veleno di vipera Russell, calcio e fosfolipidi, con aggiunta di additivi inerti e conservanti. I flaconi sigillati sono stabili a 2°- 8°C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta.

I reagenti DVVtest sono forniti in confezioni contenenti flaconi di due dimensioni diverse: REF 810, include 10 flaconi ognuno dei quali contiene il reagente per 20 test eseguiti con metodi automatici standard; REF 825, include 10 flaconi, ognuno dei quali contiene il reagente per 50 test eseguiti con metodi automatici standard.

I reagenti DVVconfirm sono forniti in confezioni contenenti flaconi di due dimensioni diverse: REF 815, include 10 flaconi, ognuno dei quali contiene il reagente per 10 test eseguiti con metodi automatici standard; REF 815L, include 10 flaconi, ognuno dei quali contiene il reagente per 20 test eseguiti con metodi automatici standard.

ATTENZIONE

DVVtest®	Attenzione		H319, H412, P264, P273, P280, P305 + P351 + P338, P337+ P313		
DVVconfirm®	Pericolo		<table border="1"><tr><td>CONT</td><td>Imidazole</td></tr></table> H315, H318, H360, H412, P202, P280, P273, P302 + P352, P332 + P313, P305 + P351 + P338	CONT	Imidazole
CONT	Imidazole				

H315 Provoca irritazione cutanea.

H318 Provoca gravi lesioni oculari.

H319 Provoca grave irritazione oculare.

H360 Può nuocere alla fertilità o al feto.

H412 Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

P202 Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze.

P264 Lavare accuratamente dopo l'uso.

P273 Non disperdere nell'ambiente.

P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.

P302 + P352 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone.

P305 + P351 + P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

P332 + P313 In caso di irritazione della pelle: consultare un medico.

P337 + P313 Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico.

PREPARAZIONE E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

I campioni di sangue possono essere prelevati mediante siringhe o provette a vuoto siliconate. Miscelare nove parti di sangue con una parte di trisodio citrato diidrato al 3,2 o 3,8% (109 o 129 mM). Se l'ematocrito del paziente è superiore a 55%, i risultati di DVVtest e DVVconfirm possono essere inaccurati, pertanto è necessario un aggiustamento del rapporto tra sangue ed anticoagulante.⁸ Dopo la miscelazione, i campioni

vanno centrifugati per 10' ad almeno 5.000 x g. E' fondamentale che tutti i plasmi che vengono analizzati con questo reagente siano poveri di piastrine, con meno di 104 piastrine/ μ L, soprattutto prima che vengano congelati; in caso contrario, l'eventuale accorciamento dei tempi potrebbe mascherare la presenza di LA.⁵ Per evitare questo inconveniente si può effettuare la centrifugazione seguendo le modalità descritte sopra oppure si può filtrare il plasma usando un filtro con porosità di 0,22 micron filter.⁹ Il plasma può essere conservato a 2° - 8°C ed analizzato entro quattro ore; in alternativa, può essere rapidamente congelato e conservato a -70°C fino a 6 mesi. I campioni congelati devono essere scongelati rapidamente a 37°C prima del loro utilizzo e vanno analizzati immediatamente o conservati per non più di 2 ore a 2° - 8°C.⁸

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

LAtrol™ LA Normal Plasmi (REF 816N) e Abnormal Plasmi (REF 816A)¹⁰, o plasmi di controllo equivalenti
Pipetter per la dispensazione di volume da 100 μ L a 5,0 mL
Acqua purificata e deionizzata o distillate



PREPARAZIONE DEI REAGENTI E STABILITÀ

NOTA: Il reagente liofilizzato DVVconfirm ha l'aspetto di una polvere; mentre il reagente liofilizzato DVVtest ha un aspetto cristallino.

Ricostituire ciascun flacone di reagente con acqua deionizzata seguendo le istruzioni riportate sull'etichetta.

REF	810	825	815	815L
Volume H ₂ O	2,0 mL	5,0 mL	1,0 mL	2,0 mL

Miscelare accuratamente il reagente, lasciarlo a temperatura ambiente per 15' per garantire la sua completa dissoluzione. Una volta ricostituito il reagente si mantiene stabile per:

	24 ore	5 giorni	1 mesi
	20° - 25°C	2° - 8°C	-20°C

I reagenti ricostituiti possono essere recuperati dagli strumenti se non sono stati a temperatura ambiente per più di 24 ore.

I reagenti ricostituiti possono essere congelati in provette di plastica per garantirne la stabilità.

I reattivi congelati vanno sciolti a 37°C per almeno 10' e agitati accuratamente su vortex prima del loro utilizzo.

PROCEDURA

DVVtest e DVVconfirm possono essere eseguiti manualmente, o utilizzando analizzatori di coagulazione semiautomatici o automatizzati.

Il metodo impostato sull'analizzatore dovrebbe dispensare uguali volumi di reagente e di campione (ovvero, 100 µL di DVVtest o DVVconfirm e 100 µL di plasma). Sia il reagente sia il plasma dovrebbero essere incubati a 37°C per almeno due minuti prima dell'analisi. Il reagente va miscelato accuratamente prima di essere posizionato sullo strumento. I risultati di DVVtest o DVVconfirm vengono riportati in tempi di coagulazione (secondi). LATrol (REF 816N) può essere utilizzato come plasma di controllo normale in DVVtest o DVVconfirm (ved. Interpretazione dei Risultati per la determinazione della negatività o positività a LA). Utilizzare tubetteria dedicata per i reagenti e posizionare agitatori magnetici nelle vaschette porta-reagenti. Effettuare una

procedura di lavaggio e/o decontaminazione dopo aver utilizzato il reagente, specialmente su strumenti che non hanno linee dedicate per i reagenti, prima di effettuare altri test coagulativi o test cromogenici.

BioMedica Diagnostics offre applicazioni strumentali per diversi analizzatori di coagulazione. Queste applicazioni dello strumento possono contenere dati di programmazione e prestazioni specifici della piattaforma che differiscono da quelli forniti nelle presenti Istruzioni per l'uso. In questi casi, le informazioni contenute nell'Application Instrument sostituiscono le informazioni contenute nelle presenti Istruzioni per l'uso. Consultare il manuale dello strumento del produttore specifico per le istruzioni operative complete.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Plasmi di controllo normali e patologici per LA dovrebbero essere analizzati in ciascun gruppo di test, al cambio del personale operativo o del turno lavorativo, e ogni 40 campioni.¹¹ I plasmi di controllo devono essere poveri di piastrine con conta piastrinica inferiore a 10^4 piastrine/ μL . I plasmi di controllo Normale e Patologico LATrol (REF 816N e 816A)¹⁰ possono essere utilizzati per il controllo di qualità. I risultati ottenuti per entrambi i plasmi di controllo per LA dovrebbero cadere all'interno degli intervalli di controllo del laboratorio prima di eseguire l'analisi dei plasmi dei pazienti.⁸

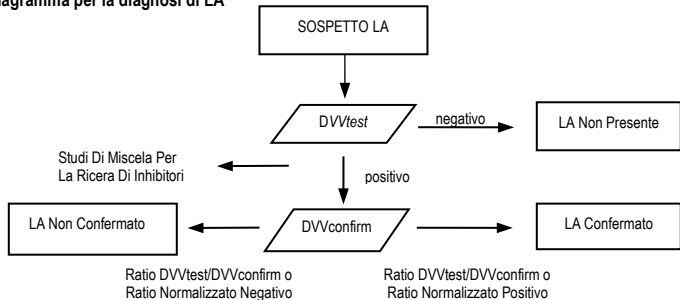
INTERVALLO DI RIFERIMENTO NORMALE

Ciascun laboratorio dovrebbe stabilire i propri intervalli normali di riferimento per DVVtest e DVVconfirm (valor medio \pm 2 DS). A tale scopo dovrebbero essere impiegati almeno 20 campioni di plasma provenienti da donatori sani che siano rappresentativi della popolazione e che comprendano uomini e donne di età adulta (ved. **VALORI ATTESI**).⁸ Quando viene effettuato lo studio dell'intervallo di riferimento, i campioni dei soggetti normali vanno trattati come i campioni dei pazienti. Se vengono analizzati solo campioni congelati, l'intervallo di riferimento va determinato solo su campioni normali congelati. Si sconsiglia di analizzare popolazioni miste

di campioni freschi e congelati sia per la definizione degli intervalli di riferimento sia per i test di routine. Un nuovo range di riferimento normale DEVE essere stabilito ad ogni cambio di lotto di reattivo o dello strumento o almeno una volta all'anno. Raccogliere i dati in numerosi giorni differenti per stabilire la variabilità tra giorni.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Diagramma per la diagnosi di LA



Risultati di DVVtest

Se il tempo di coagulazione DVVtest di un campione è all'interno dell'intervallo di riferimento normale stabilito dal laboratorio (media \pm 2 DS), il test è negativo per la presenza di LA. Se il tempo di coagulazione DVVtest

di un campione è al di fuori dell'intervallo di riferimento, ovvero al di sopra delle due DS, il test è positivo per la presenza di LA.

NOTA: Un DVVtest positivo può indicare o la presenza di LA o la carenza di Fattore II, V o X. Quando il DVVtest è positivo, bisognerebbe confermare la presenza di LA rianalizzando il campione con DVVconfirm per ottenere il valore di RATIO DVVtest/DVVconfirm (ved. sezione più avanti). Il test DVVconfirm dovrebbe essere effettuato sullo stesso plasma e nello stesso giorno in cui è stato effettuato il DVVtest. Per determinare la carenza di fattore bisognerebbe effettuare i test di miscela.

Risultati di DVVconfirm

Se un campione è risultato positivo con il DVVtest, allora dovrebbe essere effettuato il test DVVconfirm. I risultati di DVVconfirm possono essere riportati come RATIO DVVtest/ DVVconfirm o come RATIO NORMALIZZATO.

1) RATIO DVVtest/DVVconfirm - viene calcolato dividendo il tempo di coagulazione ottenuto con il DVVtest (secondi) per il tempo di coagulazione ottenuto con il DVVconfirm (secondi):

$$\text{RATIO DVVtest/DVVconfirm} = \text{DVVtest (sec)} \div \text{DVVconfirm (sec)}$$

Il valore di RATIO DVVtest/DVVconfirm deve essere determinato per i plasmi dell'intervallo di riferimento. Un valore di RATIO DVVtest/DVVconfirm per il plasma paziente superiore alle due deviazioni standard al di sopra della media dell'intervallo di riferimento del laboratorio conferma la positività del test per il LA. Se il valore di RATIO DVVtest/DVVconfirm è all'interno dell'intervallo di riferimento, il test è negativo per il LA oppure sono presenti altre condizioni anomale.

2) RATIO NORMALIZZATO – viene calcolato nel seguente modo:

$$\text{RATIO NORMALIZZATO} = \frac{\text{DVVtest (campione)}/\text{DVVtest (media intervallo di normalità)}}{\text{DVVconfirm (campione)}/\text{DVVconfirm (media intervallo di normalità)}}$$

Esempio: DVVtest paziente: 58,9 secondi
 DVVconfirm paziente: 32,2 secondi
 Media intervallo di normalità DVVtes : 35,8 secondi
 Media intervallo di normalità DVVconfirm: 32,8 secondi

$$\text{RATIO Normalizzato} = \frac{58.9 \div 35.8}{32.2 \div 32.8} = \frac{1.64}{0.98} = 1.67$$

Interpretation of NORMALIZED RATIO Results

Ratio Normalizzato	status LA
> 2,0	LA è fortemente presente
1,5 to 2,0	LA è moderatamente presente
1,2 to 1,5	LA è debolmente presente

I risultati del test possono essere riportati come positivo/negativo per LA, oppure indicando il valore di RATIO DVVtest/DVVconfirm oppure il valore di RATIO Normalizzato. Quando si riportano i valori di RATIO, va riportato anche il relativo intervallo di riferimento.

VALORI ATTESI

Intervalli di riferimento normali (± 2 DS)¹²

STRUMENTO:	MLA 1000C	ST4	ACL 300+
DVVtest (secondi)	28 - 45	29 - 51	28 - 47
DVVconfirm (secondi)	30 - 44	21 - 46	28 - 40
RATIO DVVtest/DVVconfirm	0.77 - 1.21	0.95 - 1.47	0.83 - 1.35
n	21	25	20

Gli intervalli di riferimento sono stati determinati da BioMedica Diagnostics, seguendo le indicazioni del documento CLSI Document H21-A5.⁸ I donatori inclusi nello studio erano uomini e donne adulti con valori normali di PT e APTT.

Questi risultati rappresentano solo un esempio. I risultati possono essere diversi da un laboratorio all'altro, pertanto ciascun laboratorio deve stabilire il proprio intervallo di riferimento per tutti gli strumenti ed i metodi impiegati.

LIMITAZIONI/SOSTANZE INTERFERENTI

Non analizzare campioni emplizzati, lipemici o itterici. Campioni con probabile carenza di Fattore II, V o X dovrebbero essere analizzati con i test di miscela.

Campioni sospettati di contenere inibitori dei Fattori II, V o X possono dare falsi risultati positivi.

Se il DVVtest viene effettuato su plasmi che contengono elevati livelli di FVIII (>200%), il reagente può non identificare la presenza di LA, producendo un falso negativo.¹²

DVVtest e DVVconfirm contengono agenti che neutralizzano l'eparina standard non frazionata fino alla concentrazione di 1,0 U/mL. Plasmi con eparina ad una concentrazione maggiore di 1,0 U/mL possono dare risultati prolungati con questi test.

Alcune eparine a basso peso molecolare (LMWH) possono interferire con DVVtest. Alcuni studi hanno dimostrato che il plasma addizionato di 2,0 unità/mL di Fragmin® (dalteparina sodica per iniezione) non ha interferito con i risultati del test. Plasmi addizionati con Lovenox® (enoxaparina sodica per iniezione) ad una concentrazione maggiore di 0,25 unità/mL hanno evidenziato interferenza.¹²

Il Coumadin e altri antagonisti della Vitamina K possono allungare i tempi di coagulazione di DVVtest e DVVconfirm. I valori di RATIO DVVtest/DVVconfirm, tuttavia, saranno al di fuori dell'intervallo di normalità in presenza di LA.

I campioni dovrebbero essere analizzati con almeno un altro test coagulativo poiché nessun singolo test per LA può identificare in modo assoluto la presenza di anticoagulanti di tipo lupico in ogni plasma campione.⁵

PRESTAZIONI

Precisione

I test DVVtest e DVVconfirm sono stati verificati durante un programma di controllo di qualità da BioMedica Diagnostics, e da due laboratori indipendenti. Il coefficiente di variazione totale (CV) per i campioni normali fu inferiore a 4,0% per DVVtest e inferiore a 5,0% per DVVconfirm. Per i campioni patologici il CV totale fu inferiore a 6,5% per DVVtest e inferiore a 5,0% per DVVconfirm.¹²

Specificità

I reagenti DVVtest e DVVconfirm sono stati utilizzati per l'analisi di campioni normali e patologici secondo il seguente schema.

CAMPIONE	DVVtest/DVVconfirm Positivo
plasma con LA	100% (17/17)
campione normale	2.1% (2/96)
campione con eparina	0% (0/2)
campione con carenza di fattore	0% (0/8)
plasma con inibitore del FVIII	0% (0/2)

RIEPILOGO DI SICUREZZA E PRESTAZIONI CLINICHE

Il Riassunto della sicurezza e delle prestazioni cliniche (SCCP) è disponibile nel Database europeo sui dispositivi medici (Eudamed), all'indirizzo <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> sotto il seguente Basic UDI-DI (GMN):

REF 810 0062794400205C

REF 815 0062794400215E

REF 825 0062794400255N

REF 815L 0062794400315H

BIBLIOGRAFÍA

1. Harris, E. N., Asherson, R. A. and Hughes, G. R. V. Antiphospholipid antibodies - autoantibodies with a difference. *Ann Revs Med* 1988, **39**: 261-271.

2. Conley, C. L and Hartmann, R. C. A hemorrhagic disorder caused by a circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1952, **31**: 621-622.
3. Triplett, D. A., Brandt, J. T. and Maas, R. L. The laboratory heterogeneity of lupus anticoagulants. *Arch Path Lab Med* 1985, **109**: 946-951.
4. Thiagarajan, P., Shapiro, S. S. and DeMarco, L. Monoclonal immunoglobulin M lambda coagulation inhibitor with phospholipid specificity: Mechanism of a lupus anticoagulant. *J Clin Invest* 1980, **66**: 397-405.
5. Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, de Groot PG. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J Thromb Haemost* 2009; **7**: 1737-40.
6. Exner, T., Papadopoulos, G. and Koutts, J. Use of a simplified dilute Russell viper venom time (dRVVT) confirms heterogeneity among 'Lupus Anticoagulants.' *Blood Coag Fibrinol* 1990, **1**: 259-266.
7. Thiagarajan, P., Pengo, V. and Shapiro, S. S. The use of the dilute Russell viper venom time for the diagnosis of lupus anticoagulants. *Blood* 1986, **68**: 869-874.
8. CLSI. *Collection, transport and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays – 5th Edition*. CLSI document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
9. Brandt, J. T. "Q & A". *CAP Today*, August 1992; Page 61.
10. Disponibili presso l'BioMedica Diagnostics, o presso il vostro distributore locale.
11. Passey, R. B. Walking the straight and narrow on quality control. *MLO* 1993, **2**: 39-43.
12. Dati disponibili su file presso la BioMedica Diagnostics.
13. Miyakis, S., *et al.* International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2006, **4**: 295-306.
14. CLSI. *Laboratory Testing for the Lupus Anticoagulant; Approved Guideline*. CLSI document H60-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.

ESPAÑOL

USO PROPUESTO

El DVVtest es un ensayo simplificado de Veneno de Víbora Russell diluido (dRVVT) cuyo objetivo es detectar Anticoagulante Lúpico (AL) en el plasma del paciente. El ensayo DVVconfirm se utiliza para confirmar la presencia de AL en plasmas que han resultado positivos en el ensayo DVVtest. Tanto el DVVtest como el DVVconfirm constituyen ensayos de coagulación de un paso que pueden ser realizados mediante método manual, semiautomatizado o totalmente automatizado.

EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

La identificación del Anticoagulante Lúpico (AL) en el plasma constituye un paso decisivo en el diagnóstico del Síndrome Antifosfolípido (SAF). El SAF se caracteriza clínicamente por trombosis arterial o venosa, pérdidas fetales espontáneas y recurrentes, trombocitopenia y/o desórdenes neurológicos.¹ AL puede ser inducido a raíz de la administración de clorpromacina, procainamida, toracina y determinados antibióticos. En 1952 Conley y Hartmann² describieron por primera vez la presencia de AL en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES). Posteriormente se ha ido descubriendo que AL se suele determinar más comúnmente en pacientes que no padecen LES.³ Los anticuerpos de AL se dirigen directa y específicamente contra una variedad de proteínas de unión fosfolípídica, entre las cuales se encuentran la beta 2 glicoproteína I (β 2GPI), la protrombina y la anexina V que forman complejos con diferentes fosfolípidos aniónicos (p. ej. cardiolipina, fosfatidilinositol y fosfatidilserina⁴). Los Anticoagulantes Lúpicos son inmunoglobulinas de isotipos IgG, IgM y IgA que prolongan uno o varios de los ensayos fosfolípido dependientes de coagulación que se realizan in vitro (p. ej. el test de tromboplastina parcial con activador (APTT), el test de tiempo de protrombina diluida (dPT), el de tiempo de Textarin o el de veneno de víbora Russell diluido (dRVVT). La Sociedad Internacional para la

Trombosis y la Hemostasis (Scientific Subcommittee “Criteria on Lupus Anticoagulants and Phospholipid-dependent Antibodies”) recomienda para el diagnóstico de AL el empleo de un ensayo de screening basado en la coagulación junto con un ensayo de confirmación que contenga una alta concentración de fosfolípidos.⁵ BioMedica Diagnostics ha desarrollado el DVVtest como ensayo primario de screening para detectar AL y DVVconfirm como ensayo complementario de alto contenido en fosfolípidos para confirmar su diagnóstico. Tanto DVVtest como DVVconfirm han sido especialmente formulados para reducir el efecto de la heparina a fin de maximizar la sensibilidad y la especificidad para diagnosticar AL.¹⁴

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El reactivo DVVtest contiene activador aislado a partir de Veneno de Víbora Russell que activa directamente el factor X convirtiéndolo en factor Xa en presencia de fosfolípidos y de calcio. El factor Xa convierte la protrombina en trombina, la cual convierte el fibrinógeno en fibrina originando la formación de coágulos en el plasma. Esta activación directa del factor X es independiente de los factores extrínsecos e intrínsecos en la cascada de coagulación, por lo tanto no se ve afectada por ninguna deficiencia de los factores VIII, IX, XI y XII, o de sus respectivos inhibidores. El DVVtest se considerará positivo cuando se determine una prolongación significativa del tiempo de coagulación fosfolípido dependiente (>2 desviaciones estándar por encima de la media normal del laboratorio). Si existe sospecha de AL, se recomienda realizar el DVVtest en muestras con APTT normal, puesto que la dilución y el tipo de fosfolípidos que contiene el reactivo del DVVtest aumenta la sensibilidad y la especificidad para AL.⁶

DVVconfirm es un ensayo de coagulación formulado con activador aislado a partir de Veneno de Víbora Russell y una alta concentración de fosfolípidos para utilizar junto con el DVVtest con el objetivo de confirmar la presencia de AL en el plasma.⁷ En un plasma que contenga AL, el tiempo de coagulación con DVVconfirm debería resultar significativamente inferior que al emplear DVVtest. La presencia de AL en las muestras de

plasma queda confirmada cuando el ratio entre el tiempo de coagulación del DVVtest y el tiempo de coagulación del DVVconfirm es superior al rango normal del laboratorio (media del RATIO DVVtest/DVVconfirm \pm 2 desviaciones estándar).

REACTIVOS

Los reactivos del DVVtest y del DVVconfirm se suministran liofilizados y consisten en mezclas patentadas de los activador aislado a partir de Veneno de Víbora Russell, calcio y fosfolípidos, así como aditivos y conservantes inertes. Conservándolos entre 2° y 8°C, el contenido de los viales sin abrir se mantiene estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Los reactivos del DVVtest se suministran en dos tamaños diferentes de viales: a) REF 810 incluye 10 viales que contienen, cada uno, la cantidad de reactivo necesaria para realizar 20 ensayos con la mayoría de los métodos automatizados. b) REF 825 incluye 10 viales que contienen, cada uno, la cantidad de reactivo necesaria para realizar 50 ensayos con la mayoría de los métodos automatizados.

Los reactivos del DVVconfirm se suministran en dos tamaños diferentes de viales: a) REF 815 incluye 10 viales que contienen, cada uno, la cantidad de reactivo necesaria para realizar 10 ensayos con la mayoría de los métodos automatizados. b) REF 815L incluye 10 viales que contienen, cada uno, la cantidad de reactivo necesaria para realizar 20 ensayos con la mayoría de los métodos automatizados.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS PARA LOS USUARIOS

DVVtest®

atención



H319, H412, P264, P273, P280, P305 + P351 + P338, P337+
P313

DVVconfirm® peligro



CONT Imidazole H315, H318, H360, H412, P202, P280,
P273, P302 + P352, P332 + P313, P305 + P351 + P338

H315 Provoca irritación cutánea.

H318 Provoca lesiones oculares graves.

H319 Provoca irritación ocular grave.

H360 Puede perjudicar la fertilidad o dañar al feto.

H412 Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

P202 No manipular la sustancia antes de haber leído y comprendido todas las instrucciones de seguridad.

P264 Lavarse concienzudamente tras la manipulación.

P273 Evitar su liberación al medio ambiente.

P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

P302 + P352 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.

P305 + P351 + P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

P332 + P313 En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico.

P337 + P313 Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Las muestras de sangre se pueden extraer empleando jeringas o tubos siliconados de vacío. Mezcle nueve partes de sangre con una parte de dihidrato del citrato trisódico (3,2 ó 3,8%) (109mM ó 129 mM). Si el valor hematocrito del paciente es superior al 55%, los resultados del DVVtest y del DVVconfirm pueden resultar imprecisos, pudiendo ser necesario ajustar la proporción entre la sangre y el anticoagulante.⁸ Tras efectuar la mezcla, centrifugue las muestras a un mínimo de 5000 x g durante 10 minutos para eliminar los trombocitos. El plasma pobre en trombocitos puede obtenerse también mediante filtrado de plasma utilizando un filtro de

0,22 micrones.⁹ Es indispensable que se empleen plasmas pobres en trombocitos ($< 10^4$ trombocitos/ μ L), especialmente si van a ser congelados antes de ser analizados; de lo contrario, podrían obtenerse resultados inferiores que podrían ocultar la presencia de AL.⁵ Manteniendo el plasma obtenido entre 2°- 8°C, puede ser analizado en el intervalo de las 4 horas siguientes. Como alternativa, el plasma puede ser congelado rápidamente y mantenido a -70°C durante un máximo de seis meses. El plasma congelado debe ser descongelado rápidamente a 37°C antes de su utilización, debiendo ser testado inmediatamente o pudiendo ser almacenado como máximo dos horas entre 2°- 8°C.⁸

MATERIALES NECESARIOS QUE NO SE SUMINISTRAN

Plasmas de control para LATrol™ AL Normal (REF 816N) y Anormal (REF 816A)¹⁰ (o plasmas de control equivalentes)

Pipetas para dispensar volúmenes de 100 μ L a 5,0 mL

Agua purificada desionizada o destilada



PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

NOTA: El liofilizado de DVVconfirm tiene la apariencia de polvo; el liofilizado del DVVtest puede tener una apariencia cristalina.

Reconstituya cada vial de reactivos con agua desionizada siguiendo las instrucciones de la etiqueta.

REF	810	825	815	815L
Volumen H ₂ O	2,0 mL	5,0 mL	1,0 mL	2,0 mL

Después de añadir el agua, mezcle bien el reactivo y manténgalo a temperatura ambiente durante 15 minutos como mínimo para asegurar la disolución completa. Una vez reconstituidos, el reactivo se mantendrá estable durante:

	24 horas	5 días	1 mes
	entre 20°- 25°C	entre 2°- 8°C	-20°C

El reactivo reconstituido puede ser recuperado del analizador si no ha sido superado el tiempo de estabilidad de 24 horas a temperatura ambiente. El reactivo reconstituido puede ser congelado en tubos de almacenamiento de plástico para asegurar su estabilidad. Cuando vaya a utilizar un reactivo congelado, proceda a su descongelación a 37°C durante 10 minutos como mínimo y agítelo bien antes de usar.

PROCEDIMIENTO

DVVtest y DVVconfirm pueden realizarse manualmente, o utilizando analizadores de coagulación semiautomatizados o automatizados.

Sea cual fuere el instrumento seleccionado, se empleará el mismo volumen de reactivo que de muestra de plasma, por ejemplo 100 µL de reactivo DVVtest o de reactivo DVVconfirm y 100 µL de plasma. Tanto el reactivo como la muestra de plasma se deben incubar a 37°C durante 2 minutos como mínimo, antes de realizar el ensayo. Mezcle bien el reactivo reconstituido antes de agregarlo al plasma. Los resultados del DVVtest y el DVVconfirm son indicados en unidades de tiempo (segundos). Latrol (REF 816N) puede ser utilizado como plasma de control normal para los ensayos DVVtest y DVVconfirm. (Véase "Interpretación e informe de los resultados".) Coloque varillas magnéticas para agitación en el depósito de reactivos y de ser posible, añada los reactivos empleando tubos flexibles aparte. Después de utilizar los reactivos, realice un

enjuagado y/o lavado del aparato, especialmente si no dispone de tubos flexibles aparte para el suministro de los reactivos, antes de volverlo a utilizar para otro ensayo de coagulación o ensayo cromogénico.

BioMedica Diagnostics ofrece aplicaciones de instrumentos para varios analizadores de coagulación. Estas aplicaciones de instrumentos pueden contener datos de programación y rendimiento específicos de la plataforma que difieren de los proporcionados en estas Instrucciones de uso. En estos casos, la información contenida en la Aplicación del Instrumento reemplaza la información en esta Instrucción de Uso. Consulte el manual del instrumento del fabricante específico para obtener instrucciones de funcionamiento completas.

CONTROL DE CALIDAD

Para cada serie de ensayos se debe realizar un control normal y un control anormal; también se llevarán a cabo en el caso de cambio de personal o de turno, así como cada 40 muestras.¹¹ Los plasmas de control deben ser pobres en trombocitos ($< 10^4$ trombocitos/ μL). Los plasmas de control LATrol AL Normal y Anormal (REF 816N y 816A)¹⁰ pueden ser utilizados para controles de calidad. Antes de analizar las muestras de los pacientes, los plasmas de control de AL normal y anormal deben haber arrojado resultados comprendidos dentro de los rangos de control establecidos en el laboratorio.⁸

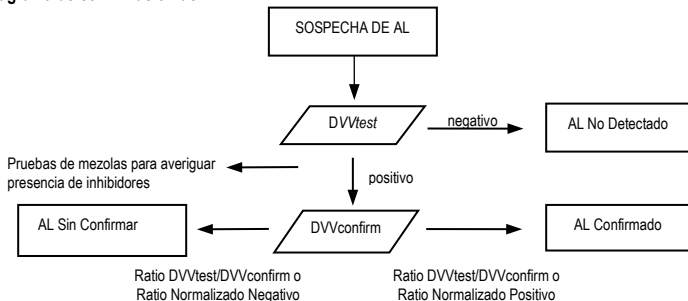
RANGO NORMAL DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe establecer su propio rango normal para el DVVtest y el DVVconfirm (media \pm 2 desviaciones estándar). Para ello se utilizarán un mínimo de 20 plasmas de donantes sanos (aproximadamente el mismo número de hombres y mujeres adultos, véase VALORES PREVISTOS).⁸ Al establecer el rango normal de referencia, maneje las muestras de plasma normal exactamente igual que las muestras por analizar. Si únicamente se analizan muestras congeladas, los rangos normales se establecerán

exclusivamente con muestras normales congeladas. Tanto para determinar los rangos de referencia como para realizar los tests de rutina, se deberían utilizar o bien únicamente plasmas frescos o bien sólo plasmas previamente congelados. Cuando se cambie el lote de reactivos o el analizador, y si esto no procede, una vez al año como mínimo, se debe establecer un nuevo rango normal de referencia. Obtenga los datos a lo largo de varios días para determinar también la variación entre diversas series de ensayos (variación inter ensayo).

INTERPRETACIÓN E INFORME DE LOS RESULTADOS

Diagrama de confirmación de AL



Resultados del DVVtest

Si el plasma del paciente arroja un resultado situado dentro del rango normal establecido por el laboratorio para el DVVtest (media \pm 2 desviaciones estándar) el test para AL es negativo. Si el resultado del DVVtest es superior al rango normal el test es positivo para AL.

NOTA: Un DVVtest positivo indica o bien la presencia de AL o bien alguna deficiencia de factor II, V o X. Si el DVVtest resulta positivo, la presencia de AL debe ser confirmada realizando nuevamente el ensayo con el DVVconfirm para obtener un RATIO DVVtest/DVVconfirm (véase abajo). El ensayo DVVconfirm debe ser realizado con la misma muestra de paciente y el mismo día que el DVVtest. Las posibles deficiencias de factores se determinarán mediante pruebas de mezclas.

Resultados del DVVconfirm

Si una muestra ha resultado ser positiva con el DVVtest, proceda a realizar el ensayo DVVconfirm. Los resultados de DVVconfirm pueden ser reportados como RATIO DVVtest/DVVconfirm o como RATIO NORMALIZADO.

1) El RATIO DVVtest/DVVconfirm se calcula dividiendo el tiempo determinado con el DVVtest (en segundos) entre el tiempo determinado con el DVVconfirm (en segundos):

$$\text{RATIO DVVtest/DVVconfirm} = \text{DVVtest (seg.)} \div \text{DVVconfirm (seg.)}$$

El RATIO DVVtest/DVVconfirm debe ser determinado para plasmas normales de referencia. Si el RATIO DVVtest/DVVconfirm del plasma del paciente es superior a 2 desviaciones estándar por encima de la referencia normal establecida en el laboratorio para el RATIO DVVtest/DVVconfirm, queda confirmado que el

test de AL es positivo. Si el ratio del DVVtest/DVVconfirm se sitúa en el rango normal para el ratio, el test es negativo para AL, y hay presencia de otras anomalías.

2) El RATIO NORMALIZADO se calcula del siguiente modo:

$$\text{RATIO NORMALIZADO} = \frac{\text{DVVtest (muestra)/DVVtest (media del rango normal)}}{\text{DVVconfirm (muestra)/DVVconfirm (media del rango normal)}}$$

Ejemplo:

Muestra DVVtest:	58,9 segundos
Muestra DVVconfirm:	32,2 segundos
Media del DVVtest:	35,8 segundos
Media del DVVconfirm:	32,8 segundos

$$\text{RATIO Normalizado} = \frac{58.9 \div 35.8}{32.2 \div 32.8} = \frac{1.64}{0.98} = 1.67$$

Interpretación de resultados del RATIO NORMALIZADO

RATIO Normalizado	Status AL
> 2,0	Alta presencia de AL
de 1,5 a 2,0	Presencia moderada de AL
de 1,2 a 1,5	Ligera presencia de AL

Los resultados del ensayo se pueden expresar como “positivos/negativos” para el Anticoagulante Lúpico, o bien mediante indicación del RATIO DVVtest/DVVconfirm o el RATIO NORMALIZADO. Si se expresan los resultados en ratios, también debe indicarse el valor correspondiente al rango de referencia.

VALORES PREVISTOS

Rangos normales de referencia (± 2 desviaciones estándar)¹²

INSTRUMENTO:	MLA 1000C	ST4	ACL 300+
Tiempo DVVtest (seg.)	28 - 45	29 - 51	28 - 47
Tiempo DVVconfirm (seg.)	30 - 44	21 - 46	28 - 40
RATIO DVVtest/DVVconfirm	0,77 - 1,21	0,95 - 1,47	0,83 - 1,35
n	21	25	20

Los rangos de referencia han sido obtenidos por BioMedica Diagnostics de acuerdo al Documento CLSI H21-A5.⁸ Los donantes fueron adultos mujeres y hombres con valores normales de PT y APTT.

Estos resultados sólo se deben considerar como ejemplo. Los resultados variarán según el laboratorio; por ello cada laboratorio debe determinar sus propios rangos de referencia normales para todos los instrumentos y métodos empleados.

SUSTANCIAS INTERFERENTES

Muestras sospechosas de contener inhibidores de los Factores II, V ó X pueden reportar resultados falsos positivos.

Si el DVVtest es realizado a plasmas que contienen elevados niveles de FVIII (mayor del 200%), el reactivo puede no identificar la presencia del LA, reportando un falso negativo.¹²

Anticoagulantes orales y otros antagonistas de la Vitamina K pueden prolongar los tiempos de coagulación del DVVtest y DVVconfirm. En 2006, se publicó un estudio de actualización del criterio de clasificación del Síndrome Antifosfolípido (SAF).¹³ La actualización recomienda que si el paciente está sometido a tratamiento anticoagulante oral, la muestra del paciente debería diluirse 1:2 con plasma normal (1 parte de plasma de paciente + 1 parte de plasma normal) antes de proceder a realizar el test y asegurando que el INR (ratio internacional normalizado) es < 3.5. Cuando el INR >3.5, el test de LA no debería realizarse.

Si el laboratorio desconoce si el paciente está sometido a terapia anticoagulante oral, entonces los resultados del DVVconfirm deberían revisarse con sumo cuidado. Si el DVVconfirm no muestra una corrección significativa (tiempo de coagulación corto) respecto al DVVtest y se prolonga respecto al tiempo del DVVconfirm de un plasma normal, entonces puede sospecharse que el paciente está anticoagulado oralmente. En este caso la muestra del paciente debería mezclarse 1:2 con plasma normal y repetir el DVVtest. Si el resultado del DVVtest sigue siendo un tiempo prolongado, entonces el DVVconfirm debería también realizarse a la mezcla 1:2 para confirmar que los resultados del DVVtest son fosfolípido-dependiente.

DVVtest y DVVconfirm contiene agentes que neutralizan la heparina estándar no-fraccionada hasta concentraciones de 1.0 U/ml inclusive. Plasmas que contienen niveles de heparina superiores a 1.0 U/mL pueden reportar resultados elevados para estas técnicas. Algunas heparinas de bajo peso molecular (HBPM) pueden interferir con el DVVtest. Estudios han mostrado que plasmas con picos de 2.0 unidades/ml de Fragmin[®] (enoxaparina sódica inyectada) no interfieren con los resultados del ensayo. Plasmas con picos de Lovenox[®] (enoxaparina sódica inyectada) a concentraciones mayores de 0.25 unidades/mL interfieren con los resultados.¹²

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

No analice muestras hemolizadas, lipémicas o ictericas.

Las muestras con sospecha de deficiencia de factores II, V, o X deben ser analizadas realizando pruebas de mezclas.

Las muestras deben ser testadas empleando por lo menos otro test diferente de AL basado en la coagulación, dado que mediante ningún único ensayo de AL se consigue una identificación absoluta de la presencia de Anticoagulantes Lúpicos el plasma.⁵

CARACTERÍSTICAS DE LAS PRESTACIONES

Precisión

Los ensayos DVVtest y DVVconfirm han sido sometidos a un programa de control de calidad realizado por BioMedica Diagnostics, y dos laboratorios independientes. El coeficiente de variación global (CV) para plasmas normales fue inferior a 4,0% para el DVVtest e inferior a 5,0% para el DVVconfirm. Para plasmas anormales el CV global fue inferior a 6,5% para el DVVtest e inferior a 5,0% para el DVVconfirm.¹²

Especificidad

Los reactivos de DVVtest y DVVconfirm han sido testados¹² utilizando plasmas normales y anormales, tal y como se describe a continuación.

Muestra de Plasma	DVVtest/DVVconfirm positivo
Plasmas con test de AL positivo	100% (17/17)
Plasmas normales	2,1% (2/96)
Plasmas heparinizados	0% (0/2)
Plasmas con deficiencia de factores	0% (0/8)
Plasmas con inhibidor del factor VIII	0% (0/2)

RESUMEN DE SEGURIDAD Y DESEMPEÑO CLÍNICO

El Resumen de seguridad y desempeño clínico (SCCP) está disponible en la Base de datos europea sobre dispositivos médicos (Eudamed), en <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> bajo el siguiente UDI-DI básico (GMN):

REF 810 0062794400205C

REF 815 0062794400215E

REF 825 0062794400255N

REF 815L 0062794400315H

REFERENCES

1. Harris, E. N., Asherson, R. A. and Hughes, G. R. V. Antiphospholipid antibodies - autoantibodies with a difference. *Ann Revs Med* 1988, **39**: 261-271.
2. Conley, C. L. and Hartmann, R. C. A hemorrhagic disorder caused by a circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1952, **31**: 621-622.
3. Triplett, D. A., Brandt, J. T. and Maas, R. L. The laboratory heterogeneity of lupus anticoagulants. *Arch Path Lab Med* 1985, **109**: 946-951.

4. Thiagarajan, P, Shapiro, S. and DeMarco, L. Monoclonal immunoglobulin M lambda coagulation inhibitor with phospholipid specificity: Mechanism of a lupus anticoagulant. *J Clin Invest* 1980, **66**: 397-405.
5. Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, de Groot PG. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J Thromb Haemost* 2009; **7**: 1737–40.
6. Exner, T., Papadopoulos, G. and Koutts, J. Use of a simplified dilute Russell viper venom time (dRVVT) confirms heterogeneity among 'Lupus Anticoagulants.' *Blood Coag Fibrinol* 1990, **1**: 259-266.
7. Thiagarajan, P., Pengo, V. and Shapiro, S. S. The use of the dilute Russell viper venom time for the diagnosis of lupus anticoagulants. *Blood* 1986, **68**: 869-874.
8. CLSI. *Collection, transport and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays – 5th Edition*. CLSI Document H21-A5. Vol. 28, No. 5. 2008.
9. Brandt, J. T. "Q & A". *CAP Today*, August 1992, Page 61.
10. Disponible en BioMedica Diagnostics, o su distribuidor local.
11. Passey, R. B. Walking the straight and narrow on quality control. *MLO* 1993, **2**: 39-43.
12. Datos registrados a disposición de BioMedica Diagnostics.
13. Miyakis, S., *et al*. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2006, **4**: 295-306.
14. CLSI. *Laboratory Testing for the Lupus Anticoagulant; Approved Guideline*. CLSI document H60-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.

DANSK

ANVENDELSESOMRÅDE

DVVtest[®] er en enkelt-trins fortyndet Russell's Viper Venom Time (dRVVT)-test beregnet til bestemmelse af tilstedeværelsen af Lupus Anticoagulants (LA) i humant plasma. DVV-test kan udføres manuelt eller ved at bruge semi-automatiserede eller automatiserede koagulationsanalytatorer. Reagenset er til in vitro diagnostisk brug.

DVVconfirm[®] er en enkelt-trins fortyndet Russell's Viper Venom Time (dRVVT) test beregnet til bestemmelse af tilstedeværelsen af Lupus Anticoagulants (LA) i humant plasma. DVVconfirm kan udføres manuelt eller ved at bruge semi-automatiske eller automatiserede koagulationsanalytatorer. Reagenset er til in vitro diagnostisk brug.

FORKLARING AF TESTEN

Identifikationen af Lupus Antikoagulans (LA) i plasma er et diagnostisk stempel af det Antifosfolipide Syndrom (APS) som er klinisk karakteriseret ved arteriel/venøs trombose, recidiv spontan tab af foster (spontan abort), trombocytopeni og/eller neurologiske forstyrrelser. LA kan også induceres som et resultat af brugen af klorpromazin, procainamid, torazin og visse antibiotika. I 1952 beskrev Conley & Hartmann som de første tilstedeværelsen af LA i patienter med Systemisk Lupus Erythematosis (SLE). Det er nu anerkendt at LA findes oftere i patienter som ikke har SLE. LA auto-antistoffer er specifikt rettet mod en afart af fosfolipid bindende proteiner der inkluderer β 2-glycoprotein I (β 2GPI), protrombin, og annexin V, som er komplekst bundet til forskellige anioniske fosfolipider (f.eks. kardiolipiner, fosfatidylinotisol og fosfatidylserin). Lupus Antikoagulans er immunoglobuliner af IgG, IgM of IgA isotyper som forlænger et eller flere af de in vitro fosfolipid afhængige

koagulations test (f.eks. aktiveret delvis tromboplastin tid (APTT), opløst prothrombin tid (dPT), Textarin tid eller dRVVT). Det Internationale Forening for Trombose og Hemostase, Det Videnskabelige Undernævns Kriterie for Lupus Antikoagulans og Fosfolipid-afhængige antistoffer har anbefalet at LA bør diagnosticeres ved at anvende koagulationsbaserede screening tests og en bekræftende test, som indeholder en høj fosfolipid koncentration.⁵ BioMedica Diagnostics har udviklet DVVTest som et primært screening diagnostisk test for LA og DVVconfirm som et ledsagende høj fosfolipid-indholdende test til at bekræfte LA diagnosen. DVVTest og DVVconfirm er specielt blandet til at reducere heparin effekten for at maksimere sensitiviteten og specificiteten af LA diagnosticering.¹⁴

METODENS PRINCIP

DVVTest reagens indeholder af aktivator isoleret fra Russell's Viper Venom som direkte aktiverer Factor X til Factor Xa i nærvær af fosfolipider og calcium. Factor Xa kløver protrombin til trombin, som konverterer fibrinogen til fibrin som så leder hen på en målbar koagulationsformation i plasma. Denne direkte aktivering af Factor Xa forgrener Contact og Intrinsic baner i koagulationskaskader og ekskluderer derved indblanding af fejl fra Factor VIII, IX, XI og XII, eller deres respektive inhibitorer. En positiv DVVTest er indikeret ved en mærkbar forlængelse af det fosfolipid-afhængige koagulationstid (>2 standard afvigelser over laboratoriets normal reference). Hvis patienten er mistænkt for at have LA, kan DVVtesten også benyttes på prøver med en normal APTT fordi opløsningen og typen af fosfolipider der er indeholdt i DVVtest reagensen forøger testens LA sensitivitet og specificitet.

DVVconfirm er det høje fosfolipid der indeholder koagulations analyse der er brugt i Konjunktion med DVVtest til at bekræfte tilstedeværelsen af LA i plasma. DVVconfirm er blandet med Russell's Viper Venom og en høj koncentration af fosfolipider. Koagulationstiden for plasma der indeholder LA burde være mærkbart kortere med DVVconfirm ved sammenligning med DVVtest. Tilstedeværelsen af LA i plasmaprøver er bekræftet, når

forholdet mellem DVVtest koagulationstid og DVVconfirm koagulationstid er større end målområde for laboratoriets normale reference DVVTest/DVVconfirm RATIO (normalforhold ± 2 S.D.)



REAGENSER

DVVtest og DVVconfirm reagenserne er frysetørrede og foreligger som optimerede blandinger af aktivator isoleret fra Russell's Viper Venom, calcium og fosfolipid samt visse inerte og holdbarhedssøgende tilsætningsstoffer. Uåbnede flasker som opbevares ved 2-8°C er holdbare til udløbsdatoen som er markeret på etiketten.

DVVtest er pakket i 2 størrelser: REF 810, indeholder 10 vials, et enkelt vial indeholder reagens for 20 prøver som udført ved de mest automatiserede metoder; REF825, indeholder 10 vials, hver enkelt vial indeholder reagens nok til 50 prøver som er udført ved de mest automatiserede metoder.

DVVconfirm er pakket i 2 størrelser: REF 815, indeholder 10 vials, et enkelt vial indeholder reagens til 10 prøver som udført ved de mest automatiserede metoder; REF815L, indeholder 10 vials, hver enkelt vial indeholder reagens nok til 20 prøver som er udført ved de mest automatiserede metoder.

ADVARSLER

DVVtest®	Advarsel		H319, H412, P264, P273, P280, P305 + P351 + P338, P337+ P313		
DVVconfirm®	Farlig		<table border="1"><tr><td>CONT</td><td>Imidazole</td></tr></table> H315, H318, H360, H412, P202, P280, P273, P302 + P352, P332 + P313, P305 + P351 + P338	CONT	Imidazole
CONT	Imidazole				

- H315 Forårsager hudirritation. H318 Forårsager alvorlig øjenskade.
H319 Forårsager alvorlig øjenirritation. H360 Kan skade forplantningsevnen eller det ufødte barn.
H412 Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger.
P202 Anvend ikke produktet, før alle advarsler er læst og forstået.
P264 Vask grundigt efter brug.
P273 Undgå udledning til miljøet.
P280 Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenbeskyttelse/ ansigtsbeskyttelse.
P302 + P352 VED KONTAKT MED HUDEN: Vask med rigeligt sæbe og vand.
P305 + P351 + P338 VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning.
P332 + P313 Ved hudirritation: Søg lægehjælp.
P337 + P313 Ved vedvarende øjenirritation: Søg lægehjælp.

PRØVETAGNING og TILBEREDNING

Blodprøver kan tages med en sprøjte eller silikoniserede vakuum rør. Bland 9 dele blod med en del af 3.2 eller 3,8% trinitriumcitrat-dihydrat. Hvis patientens hematokrit er højere end 55%, bør citratmængden formindskes proportionelt for at undgå indvirkning på resultatet. Efter blandingen centrifugeres prøven ved 5,000 x g i 10 minutter. Det er meget vigtigt at al plasma der testes med denne reagens er "platelet poor" dvs, at det har færre end 10 trombocytter/ μ L. Dette gælder specielt hvis plasmaen skal nedfryses, idet kan testresultaterne forværres hvilket kunne maskere LA til-stedeværelsen . Dette kan opnås ved centrifugering (se ovenfor) eller ved at filtrere plasmaen gennem et 0,22 micron filter. Det samlede plasma kan da siden opbevares ved 2°- 8°C men bør afprøves/testes indenfor 4 timer. Alternativt kan plasmaen nedfryses til -70°C og opbevares i et halvt år.

Nedfrosset plasma skal hurtigt tøs op til 37°C før brug og afprøves omgående, eller bør ikke opbevares længere end 2 timer ved 2° - 8°C i optøet stand før afprøvning.

MATERIALE SOM BEHØVES FØR ANALYSEARBEJDET

LAtrol™, LA normal (REF 816N) respektive unormal kontrolplasma (REF 816A)¹⁰ eller lignende
Pipetter til volumen mellem 100 µL og 5,0 ml
rent deioniseret eller destilleret vand



REAGENSENS OPLØSNING OG STABILITET

Bemærk: DVVconfirm lyoph. har et pudderagtigt udseende, dog kan DVVtest lyoph. forekomme krystallint. Opløs reagentet i det volumen destilleret vand som er angivet på etiketten. Blandes ordentligt og lad det stå i mindst 15 min. ved stuetemperatur, så opløsningen bliver fuldstændig.

Opløs reagentet i det volumen destilleret vand som er angivet på etiketten. Blandes ordentligt og lad det stå i mindst 15 min. ved stuetemperatur, så opløsningen bliver fuldstændig.

REF	810	825	815	815L
Volume H ₂ O	2.0 mL	5.0 mL	1.0 mL	2.0 mL

Reagentet er stabilt: i 24 timer ved 20° - 25°C, 7 dage ved 2° - 8°C, 1 måned ved -20°C Rekonstitueret reagens kan blive genvundet fra instrument reagens reservoir forudsat at 24-timers stuetemperatur stabilitet ikke er overskredet. Rekonstitueret reagens kan nedfryses i plastik opbevarings rør for at sikre stabilitet. Nedfrosset reagens bør stå i mindst 10 minutter ved 37°C, derefter "vortexes" inden brug.

	24 timer	5 dage	1 måned
	20° - 25°C	2° - 8°C	-20°C

METODEUDFØRELSE

DVVtest og DVVconfirm kan udføres manuelt, eller ved hjælp af semi-automatiserede eller automatiserede koagulationsanalysatorer.

Apparaterne stilles ind på at levere lige dele volumen (f.eks 100 µL) prøve og reagens. Både prøve og reagens skal inkuberes ved 37°C i mindst 2 minutter inden testen startes. Bland det rekonstituerede materiale grundigt inden det sættes til apparaturet. Resultatet angives i sekunder (koagulationstid). Som kontrol anbefales LATrol REF 816N (normal) som bør bruges ved udførsel af DVVtest og DVVconfirm. (Se fortolkningen ad resultaterne for determinationen af LA negativitet og LA positivitet.) Anvend helst en speciel slange for at mindske kontaminations-risiko for denne reagens. Glem ikke magnetorrør i reagensreservoirerne. Udfør a rensning og/eller en vaskning procedure efter brug af reagensen, specielt for de instrumenter som ikke har speciel reagens slange, før udførsel andre koagulations-eller kromogene prøver.

BioMedica Diagnostics tilbyder instrumentapplikationer til flere koagulationsanalysatorer. Disse instrumentprogrammer kan indeholde platformspecifik programmerings- og ydelsesdata, der adskiller sig fra dem, der er givet i denne brugsanvisning. I disse tilfælde erstatter informationerne i instrumentprogrammet informationen i denne brugsanvisning. Se den specifikke producentens instrumentmanual for komplet betjeningsvejledning.

KVALITETSKONTROL

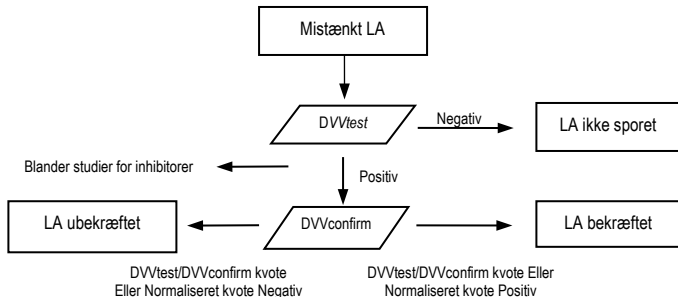
Både normal og unormal LA kontrolplasma skal indgå i hver analyse serie med et skift af personale eller skiftehold, og for hver 40 prøve.¹¹ Al kontrol plasma skal indeholde færre end 10 trombocytter/ μ L. LATrol LA Normal og Unormal kontrol plasma (REF 816N og REF 816 A) kan bruges som kvalitetskontrol. Værdier både for normal og unormal skal ligge indenfor de intervaller som laboratoriet selv har bestemt, inden patient plasma analyseres.

REFERENCEOMRÅDE FOR NORMAL PLASMA

Hvert laboratorium skal bestemme deres eget referenceområde for DVVtest og DVVconfirm som har en middelværdi $\pm 2SD$. Mindst 20 plasma fra et repræsentativt område (køn, alder) af raske bloddonorer bør indgå. Det er vigtigt at normalværdi plasma behandles *på same måde* som prøve plasma kommer til at blive behandlet. Hvis frosne prøver er testet separate skal normalværdierne være fastsat kun for frosne prøver. Det kan ikke anbefales at blande prøverne, dvs. at analysere begge prøver som friske eller nedfrosne i vilkårlig rækkefølge. Et nyt reference område skal tages frem ved enhver forandring f.eks. en bytning af reagens Lot #, ændringer på apparat og minimum én gang om året hvad der kommer først). Opnå daglige data over flere dage for at bestemme en dag-dag variation.

FORTOLKNING & RAPPORTERING (Se resultaterne: LA Decision Flow Chart)

LA Decision Flow Chart



DVVTest Resultat

Hvis koagulationsprøven ligger indenfor referenceområdet (middelværdi \pm 2SD), så er prøven LA negativ, men hvis DVVTest tiden for prøveplasmaet er større end middelværdien på de 2SD, så er prøven LA positiv.

Bemærkning: En positiv DVVTest indikerer enten at LA er til stede eller at plasmaet kan indeholde en Factor II, V eller X mangel. Når DVVtesten er positiv bør LA tilstedeværelsen blive bekræftet. Reteste ved at bruge DVVconfirm for at opnå en DVVtest/DVVconfirm kvote. DVVConfirm prøven skal udføres på samme patient prøve samme dag som DVVtesten er blevet udført. Blandede studier skal udføres for at bestemme tilstedeværelsen af en faktor mangel.

DVVconfirm Resultat

Hvis prøven er testet positiv for DVV test, så skal DVVConfirm testen udføres. Resultaterne fra DVVconfirm kan rapporteres ved at bruge DVVTest/DVVconfirm kvote eller normaliseret kvote.

1) Kvoten DVVtest/DVVconfirm (sec.) benævnes KVOT. DVVtest/DVVconfirm beregnes ved at dividere DVVtest tid (sek.) med DVVconfirm tid (sek.) som følger:

$$\text{DVVtest/DVVconfirm Kvote} = \text{DVVtest(sek.)} \div \text{DVVConfirm (sek.)}$$

DVVtest/DVVconfirm KVOTE skal være bestemt for normal reference plasma. En resulterende kvote af test plasma der er større end 2 standard afvigelser over laboratoriets normale reference niveau DVVtest/DVVconfirm KVOTE bekræfter en positiv LA test. Hvis DVVtest/DVVconfirm kvote resultatet er indenfor normal reference middelværdi, så er prøven LA negativ eller at andre afvigelser er tilstede.

2) Normalkvoten beregnes som følger:

$$\text{NORMALKVOTE} = \frac{\text{DVVtest (prøve)/DVVtest (normal reference værdi)}}{\text{DVVconfirm (prøve)/DVVconfirm (normal reference værdi)}}$$

Kun eksempel:	Patient DVVtest:	58.9 seconds
	Patient DVVconfirm:	32.2 seconds
	Mean DVVtest:	35.8 seconds
	Mean DVVconfirm:	32.8 seconds

$$\text{NORMALKVOTE} = \frac{58.9 \div 35.8}{32.2 \div 32.8} = \frac{1.64}{0.98} = 1.67$$

Fortolkning af normaliseret kvote resultater:

NORMALKVOTE	LA Status
> 2.0	Stærkt Positiv
1.5 – 2.0	Moderat Positive
1.2 – 1.5	Svagt Positive

Testresultaterne kan rapporteres som enten værende positiv eller negativ for LA, eller ved at rapportere DVVtest/DVVconfirm kvote eller normaliseret kvote. Ved rapportering af kvote resultater skal værdien for referenceområdet også rapporteres.

FORVENTEDE VÆRDIER

Normal Reference Område ($\pm 2SD$)

INSTRUMENT	MLA 1000C	ST4	ACL 300+
DVVtest (sek)	28 - 45	29 - 51	28 - 47
DVVconfirm (sek)	30 - 44	21 - 46	28 - 40
DVVtest/DVVconfirm Kvote	0,77 - 1,21	0,95 - 1,47	0,83 - 1,35
n	21	25	20

Reference områder var generet af BMD i overensstemmelse med CLSI Dokument H21-A5. Donorer der har deltaget har både været mænd og kvinder, i forskellige aldre og have normale PT og APPT værdier. Disse resultater er kun vejledende. Resultater vil altid variere fra et laboratorium til et andet og ethvert test område må selv bestemme deres normal reference område for alle instrumenter og metoder der anvendes.

FORSTYRENDE STOFFER

Prøver mistænkt for at indeholde inhibitorer af Faktorer II, V og X kan give falske positive resultater. Hvis DVVtest udføres på plasma, der indeholder høje niveauer af faktor VIII (større end 200%), kan reagenset ikke identificere tilstedeværelsen af LA, og giver en falsk negativ.

Orale antikoagulantia og andre Vitamin K antagonister kan forlænge DVVtest og DVVconfirm tider. I 2006 blev en opdatering til klassificeringskriterierne for antiphospholipid syndrom (APS) udstedt.¹³ I opdateringen anbefales, at hvis patienten er på en oral antikoagulant, bør patientens prøve fortyndes i forholdet 1:2 med normal plasma (1 del patientplasma + 1 del normal plasma), før testen udføres, forudsat at INR (international normaliseret ratio) er <3,5. Når INR > 3,5, bør LA test ikke blive forsøgt.

Hvis laboratoriet ikke ved, om patienten er på oral antikoagulant, skal testresultaterne for DVVconfirm undersøges nøje. Hvis DVVconfirm ikke viser signifikant ændring (en kortere clot tid) i forhold til DVV testen og

den er forlænget i forhold til DVVconfirm tid for normal plasma, så er tilstedeværelsen af en oral antikoagulant mulig. I dette tilfælde bør patientprøven blandes 1:2 med normal plasma og DVV testes igen. Hvis DVVtest størknetiden stadig er forlænget, bør DVVconfirm også foretages på i forholdet 1:2 for at bekræfte, om DVVtest resultaterne er phospholipid-afhængige.

DVVtest og DVVconfirm indeholder stoffer, der neutraliserer standard ufraktioneret heparin op til og med 1.0 U/mL. Plasmaer med heparin niveauer højere end 1.0 U/ml kan give forhøjede resultater med disse tests. Nogle lav-molekylære hepariner (LMWH) kan forstyrre DVVtest. Undersøgelser har vist, at plasma tilsat 2,0 enheder/ml Fragmin® (dalteparin natrium injektion) har ikke forstyrret resultatet. Plasma spiket med Lovenox® (Klexane injektion) af koncentrationer på mere end 0.25 units/mL virkede forstyrrende på analyseresultater.

BEGRÆNSNINGER AF PROCEDUREN

Må ikke testes på hæmolyserede, lipæmiske, eller ikteriske prøver.

Prøver mistænkt for at have faktor II, V og X mangler skal testes ved hjælp af blandingsundersøgelser.

Prøver skal testes ved hjælp af mindst en anden koagulations- systembaseret LA test, da ingen enkelttest absolut kan identificere tilstedeværelsen af Lupus Anticoagulans i plasma.

FORVENTEDE RESULTATER

Præcision

DVVtest og DVVconfirm prøver er udført med kvalitetskontrol fra BioMedica Diagnostics Og to uafhængige laboratorier. Den samlede koefficient af afart (CV) for normalplasma var mindre end 4.0 % for DVVtest og 5.0%

for DVVconfirm. For anormalt plasma var det samlede CV mindre end 6.5% for DVVtest og mindre end 5.0% for DVVconfirm.

Specificitet

DVVtest og DVVconfirm reagens var tested både ved brug af normal som anormal plasma som beskrevet nedenfor:

Plasma Prøve	Positiv DVVtest/DVVconfirm
Lupus antikoagulant prøve	100% (17/17)
Normal plasma	2,1% (2/96)
Hepariniseret plasma	0% (0/2)
Factor mangel plasma	0% (0/8)
Factor VIII inhibitor plasma	0% (0/2)

SAMMENFATNING AF SIKKERHED OG KLINISK YDELSE

Resuméet af sikkerhed og klinisk ydeevne (SCCP) er tilgængelig i den europæiske database over medicinsk udstyr (Eudamed), på <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> under følgende Basic UDI-DI (GMN):

REF 810 0062794400205C

REF 815 0062794400215E

REF 825 0062794400255N

REF 815L 0062794400315H

REFERENCES

1. Harris, E. N., Asherson, R. A. and Hughes, G. R. V. Antiphospholipid antibodies - autoantibodies with a difference. *Ann Revs Med* 1988, **39**: 261-271.
2. Conley, C. L and Hartmann, R. C. A hemorrhagic disorder caused by a circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1952, **31**: 621-622.
3. Triplett, D. A., Brandt, J. T. and Maas, R. L. The laboratory heterogeneity of lupus -anticoagulants. *Arch Path Lab Med* 1985, **109**: 946-951.
4. Thiagarajan, P., Shapiro, S. S. and DeMarco, L. Monoclonal immunoglobulin M lambda coagulation inhibitor with phospholipid specificity: Mechanism of a lupus anticoagulant. *J Clin Invest* 1980, **66**: 397-405.
5. Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, de Groot PG. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J Thromb Haemost* 2009; **7**: 1737-40.
6. Exner, T., Papadopoulos, G. and Koutts, J. Use of a simplified dilute Russell viper venom time (dRVVT) confirms heterogeneity among 'Lupus Anticoagulants.' *Blood Coag Fibrinol* 1990, **1**: 259-266.
7. Thiagarajan, P., Pengo, V. and Shapiro, S. S. The use of the dilute Russell viper venom time for the diagnosis of lupus anticoagulants. *Blood* 1986, **68**: 869-874.
8. CLSI. *Collection, transport and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays – 5th Edition*. CLSI document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
9. Brandt, J. T. "Q & A". *CAP Today*, August 1992, Page 61.
10. Available from BioMedica Diagnostics, or your local Distributor
11. Passey, R. B. Walking the straight and narrow on quality control. *MLO* 1993, **2**: 39-43.
12. Data on file, BioMedica Diagnostics.

13. Miyakis, S., *et al.* International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2006, **4**: 295-306.
14. CLSI. *Laboratory Testing for the Lupus Anticoagulant; Approved Guideline*. CLSI document H60-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.

SVENSKA

AVSEDD ANVÄNDNING

DVVtest[®] är ett enstegs utspädd Russells Viper Venom Time (dRVVT)-test avsett för bestämning av förekomsten av lupusantikoagulanter (LA) i human plasma. DVV-test kan utföras manuellt eller med hjälp av halvautomatiska eller automatiserade koagulationsanalyser. Reagenset är avsett för in vitro diagnostisk användning.



DVVconfirm[®] är ett enstegstest av Russell's Viper Venom Time (dRVVT) avsett för bestämning av förekomsten av lupusantikoagulanter (LA) i human plasma. DVVconfirm kan utföras manuellt eller med hjälp av halvautomatiska eller automatiserade koagulationsanalyser. Reagenset är avsett för in vitro diagnostisk användning.

Här beskrivs testens utförande på svenska. Den engelska originalversionen innehåller en sammanfattning och en beskrivning av testprincipen.¹⁴

REAGENS

DVVtest och DVVconfirm reagensen är frystorkade och föreligger som optimerade blandningar av aktivator isolerades från Russell huggormsgift, kalcium och fosfolipid samt vissa inerta och hållbarhetsökande tillsatser. Öppnade flaskor som förvarats vid 2° - 8°C är hållbara till utgångsdatum som står på etiketten.

VARNING

DVVtest®	Varning		H319, H412, P264, P273, P280, P305 + P351 + P338, P337+ P313		
DVVconfirm®	Fara		<table border="1"><tr><td>CONT</td><td>Imidazole</td></tr></table> H315, H318, H360, H412, P202, P280, P273, P302 + P352, P332 + P313, P305 + P351 + P338	CONT	Imidazole
CONT	Imidazole				

H315 Irriterar huden.

H318 Orsakar allvarliga ögonskador.

H319 Orsakar allvarlig ögonirritation.

H360 Kan skada fertiliteten eller det ofödda barnet.

H412 Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer.

P202 Använd inte produkten innan du har läst och förstått säkerhetsanvisningarna.

P264 Tvätta grundligt efter användning.

P273 Undvik utsläpp till miljön.

P280 Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.

P302 + P352 VID HUDKONTAKT: Tvätta med mycket tvål och vatten.

P305 + P351 + P338 VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.

P332 + P313 Vid hudirritation: Sök läkarhjälp.

P337 + P313 Vid bestående ögonirritation: Sök läkarhjälp.

PROVTAGNING OCH BEREDNING

Blodprov kan tas med spruta eller silikonerade vakuumrör. Blanda nio delar blod med en del av 3,2 eller 3,8 % trinitriumcitrat-dihydrat. Om patientens hematokrit är högre än 55% bör citratmängden minskas proportionellt för att undvika att det inverkar på resultatet. Efter blandning centrifugeras provet vid minimum 5 000 x g i 10 minuter. Det är mycket viktigt att all plasma som testas med detta reagens är "platelet poor" d.v.s. har färre än 10^4 trombocyter per μL . Detta gäller speciellt om plasman skall frysas in då trombocyterna då lätt utsöndrar ämnen som neutraliserar LA. Om centrifugeringen inte räcker kan man dessutom filtrera plasman genom ett 0,22 micron filter. Den erhållna plasman kan sedan förvaras vid 2°- 8°C men bör testas inom 4 timmar. Plasman kan frysas och förvaras vid -70°C i ett halvår. Fryst plasma tinas vid 37°C och bör sedan inte förvaras längre än två timmar vid 2°- 8°C före analys.

MATERIAL SOM BEHÖVS FÖR ANALYSARBETET

LAtrol™ (REF 816N/816A) LA Normal respektive Abnormal kontrollplasma¹⁰ eller liknande.

Pipetter för volymer mellan 100 μL till 5,0 mL.

Renat, avjoniserat eller destillerat vatten.

REAGENSENS UPPLÖSNING OCH STABILITET

Lös upp reagenset i den volym dest.vatten som är angivet på etiketten. Blanda ordentligt och låt det stå i minst 15 minuter i rumstemperatur så att upplösningen blir fullständig.

Reagenset är stabilt:	24 tim.	vid 20°– 25°C
	5 dag.	vid 2°– 8°C
	1 mån.	vid -20°C

Frysta reagens bör stå minst 10 minuter i 37°C och sedan "vortexas" innan det används.

METODUTFÖRANDE

DVVtest och DVVconfirm kan utföras manuellt, eller med hjälp av halvautomatiserade eller automatiserade koagulationsanalyser.

Apparaterna ställs in på att leverera lika volymer (t.ex. 100 µL) prov och reagens. Både prov och reagens skall inkuberas vid 37°C i minst två minuter innan testen startas. Skaka upp reagenset ordentligt innan det sätts till instrumentet. Resultatet anges i sekunder (koagulationstid). Som kontroll rekommenderas LATrol REF 816N (normal). Använd helst en speciell slang för dessa reagens så att kontaminationsrisken minskar.

BioMedica Diagnostics erbjuder instrumentapplikationer för flera koagulationsanalyser. Dessa instrumentapplikationer kan innehålla plattformsspecifik programmerings- och prestandadata som skiljer sig från de som anges i denna bruksanvisning. I dessa fall ersätter informationen i instrumentapplikationen informationen i denna bruksanvisning. Se den specifika tillverkarens instrumentmanualerna för fullständig bruksanvisning.

KVALITETSKONTROLL

Både normal och abnormal LA kontrollplasma skall ingå i varje analysserie om högst c:a 40 prover eller om personalbyte och andra förändringar sker. All kontrollplasma skall innehålla färre än 10^4 trombocyter per µL. LATrol normal som abnormal rekommenderas. De skall ligga inom de intervall som laboratoriet själv bestämt innan patientplasmor analyseras.

REFERENSOMRÅDE FÖR NORMALPLASMA

Varje laboratorium skall bestämma sitt eget referensområde för *DVVtest* och *DVVconfirm* som är; medelvärde \pm 2SD. Minst 20 plasman från ett representativt material (kön, ålder) av blodgivare bör ingå. Det är viktigt att "normalvärdesplasmorna behandlas på samma sätt som provplasmorna kommer att behandlas. Båda analyseras färska eller båda frusna. Vid varje förändring, t.ex. byte av reagens Lot # tas nytt referensområde fram. Annars bör detta ske en gång om året. Bestäm även dag till dag variation.

UTVÄRDERING OCH RAPPORTERING

DVVtest resultat

Om koagulationstiden för provet ligger inom referensområdet (medelvärde \pm 2SD) så är provet negativt för LA. Om den däremot är längre än medelvärde +2SD är provet positivt för LA. Då ett sådant resultat kan bero på annat än LA testas provet med *DVVconfirm* som innehåller ett överskott av fosfolipid. Detta skall utföras på samma plasma samma dag och KVOTEN *DVVtest*/*DVVconfirm* beräknas (se nedan).

DVVconfirm resultat

I de fall testen är positiv med *DVVtest* skall provet genast testas med *DVVconfirm*. Kvoten *DVVtest*/*DVVconfirm* (sec.) benämnes KVOT. Om man i stället dividerar *DVVtest*(prov)/ *DVVtest*(medelvärdet på referenserna) och likadant med *DVVconfirm* och sedan dividerar dessa kvoter erhålles:

$$\text{NORMALISERAD KVOT} = \frac{\text{DVVtest (prov)/DVVtest (mv. Rreferenser)}}{\text{DVVconfirm (prov)/DVVconfirm (mv. Referenser)}}$$

Om NORMALISERAD KVOT	är LA Status
> 2.0	Starkt Positiv
1.5 – 2.0	Moderat Positive
1.2 – 1.5	Svagt Positive
< 1,2	Negativ

METODBEGRÄNSNINGAR

Prover som antages innehålla inhibitorer till Faktorerna II,V eller X kan ge felaktiga resultat.

Om DVV test utföres på plasmor som innehåller höga nivåer FVIII (over 200%) så föreligger en risk att närvaron av LA ej kan påvisas, vilket betyder att ett falskt negativt resultat erhålles.¹²

Orala antikoagulantia och andra Vitamin K antagonister kan förlänga DVVtest och DVVconfirm koagulationstider. Året 2006 gjordes en uppdatering av klassificeringskriterier för antifosfolipid syndrom (APS) och distribuerades.¹³ Uppdateringen föreslår att om patienten tar orala antikoagulantia så måste patientplasman spädas 1:2 med normalplasma (1+1 del) innan testen utföres, om INR (Internationellt Normaliserad Kvot) är <3.5. Om INR>3,5 bör LAtestning ej utföras.

Om det inte är känt om patienten tar orala antikoagulantia bör speciellt resultaten från DVV confirm studeras ingående. Om DVV Confirm inte ger en significant ändring (en kortare koagulationstid) jämfört med DVV test och förlängs jämfört med DVVconfirm-tid för normalplasma, då misstänks närvaron av orala antikoagulantia. I ett sådant fall skall patientplasman blandas 1:2 med normal plasma och DVVtestet upprepas. Om DVVtestets

koagulationstid fortfarande är förlängd bör DVVconfirm också utföras på en 1:2 blandning för att bekräfta att DVVtestets resultat är fosfolipidberoende.

DVVtest och DVVconfirm innehåller substanser som neutraliserar vanligt ofraktionerad heparin i koncentrationer upp till 1.0 U/mL. Plasma som innehåller heparin i nivåer högre än 1.0 U/mL kan ge förhöjda resultat med dessa tester. Några lågmolekylära hepariner (LMWH) kan interferera med DVVtestet. Det har visats att plasma till vilka har tillförts 2.0 units/mL Fragmin® (dalteparin sodium injection) ej interfererade med testresultaten. Plasma med tillförd Lovenox® (enoxaparin natrium injection) till koncentrationer store än 0.25 enheter/mL påverkade analysresultaten.¹²

SAMMANFATTNING AV SÄKERHET OCH KLINISK PRESTANDA

Sammanfattningen av säkerhet och klinisk prestanda (SCCP) finns tillgänglig i European Database on Medical Devices (Eudamed), på <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> under följande Basic UDI-DI (GMN):

REF 810 0062794400205C










REF 815 0062794400215E

REF 825 0062794400255N

REF 815L 0062794400315H

FÖRVÄNTADE RESULTAT

Data angående förväntade resultat, spridning i mätserier och specificitet samt referenslista finns i den engelskspråkiga originalmetoden.

	Symbols Key	Schlüsselwörter	Definizione dei simboli	Simboles claves	Chiave dei simboli
	Consult instructions for use	Gebrauchsanleitung beachten	Lire le mode d'emploi	Consulte las instrucciones para el Uso	Consultare le istruzioni per l'uso
	Refer to SDS	SDS konsultieren	Reportez-vous à SDS	Consulte SDS	Consultare la SDS
	In vitro diagnostic medical device	Medizinisches Produkt zur in vitro-Diagnostik	Dispositif de diagnostic médical in vitro	Dispositivo para diagnóstico in vitro	Dispositivo medico per diagnosi in vitro
	Manufactured by	Hergestellt durch	Fabricant	Fabricado por	Prodotto da
	Store at 2°C to 8°C	Bei 2°C bis 8°C lagern	Conserver à une température de 2°C à 8°C	Conservar entre 2°C y 8°C	Conservare tra 2°C e 8°C
	Lot number	Chargen	Numéro de lot	Número de Lote	Numero di lotto
	Expiration Date	Verfallsdatum	Date d'expiration	Fecha de expiración	Data di scadenza
	Catalog number	Katalog-Nr	Numéro de référence dans le catalogue	Número de Catálogo	Numero di catalogo
	CE Mark	CE-Siegel	Marque CE	Marcaje CE	Marchio CE

EC REP	European Authorised Representative	Autorisierte Vertetung für Europa	Représentant européen autorisé	Representante Europeo Autorizado	Rappresentante autorizzato per l'Europa
	Contains sufficient for <n> tests	Inhalt ausreichend für <n> Tests	Contenuto sufficiente per "n" saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenu suffisant pour "n" tests
CONT	contains	enthält	contient	contiene	contiene