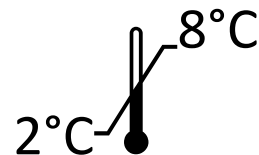


DVVtest[®] 10
DVVtest[®] 25
REF 810/825

DVVconfirm[®] 5
DVVconfirm[®] 10
REF 815/815L



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

USO PRETENDIDO

DVVtest® é um teste diluído em uma etapa do Tempo de Veneno da Víbora de Russell (dRVVT) destinado à determinação da presença de anticoagulantes lúpicos (AL) no plasma humano. O DVVtest pode ser realizado manualmente ou usando analisadores de coagulação semiautomáticos ou automatizados. O reagente é para uso diagnóstico *in vitro*.

DVVconfirm® é um teste diluído de Russell para o Tempo de Veneno da Víbora (dRVVT) destinado à determinação da presença de anticoagulantes lúpicos (AL) no plasma humano. O DVVconfirm pode ser realizado manualmente ou usando analisadores de coagulação semiautomáticos ou automatizados. O reagente é para uso diagnóstico *in vitro*.

RESUMO

A identificação de anticoagulantes lúpicos (AL) no plasma é uma característica de diagnóstico da Síndrome do anticorpo antifosfolípideo (SAF), que se caracteriza clinicamente por trombose arterial/venosa, perda fetal espontânea recorrente, trombocitopenia e/ou distúrbios neurológicos¹. Os AL também podem ser induzidos como resultado da administração de clorpromazina, procainamida, torazina e determinados antibióticos. Em 1952, a presença de AL em pacientes com Lúpus eritematoso sistêmico (LES) foi descrita pela primeira vez por Conley e Hartmann². Reconhece-se agora que os AL são mais comumente encontrados em pacientes que não têm LES³. Os autoanticorpos de AL são especificamente direcionados contra uma variedade de proteínas de ligação fosfolipídica, incluindo a β 2-glicoproteína I (β 2GPI), protrombina e anexina V, que são complexadas com diferentes fosfolipídios aniônicos (por exemplo, cardiolipina, fosfatidilinositol e fosfatidilserina⁴). Os anticoagulantes lúpicos são imunoglobulinas dos isótipos IgG, IgM e IgA que prolongam um ou mais dos testes *in vitro* de coagulação dependentes de fosfolipídios (por exemplo, Tempo de tromboplastina parcial ativada [TTPa], Tempo de protrombina diluída [TPd], Tempo de textarina ou TVVRd). Os Critérios sobre Anticoagulantes Lúpicos e Anticorpos Dependentes de Fosfolipídios do Subcomitê Científico da Sociedade Internacional de Trombose e Hemostasia recomendam que os AL sejam diagnosticados usando testes de rastreamento baseados na coagulação e um teste de confirmação com uma alta concentração de fosfolipídios⁵. A BioMedica Diagnostics desenvolveu o DVVtest como um teste de rastreamento diagnóstico primário para AL e o DVVconfirm como o teste complementar com alta concentração de fosfolipídios para confirmar o diagnóstico de AL. O DVVtest e o DVVconfirm foram especialmente concebidos para reduzir o efeito da heparina e maximizar a sensibilidade e especificidade do diagnóstico de AL¹⁴.

PRINCÍPIO DO TESTE

O reagente do DVVtest contém um ativador isolado do veneno da víbora de Russell que ativa diretamente o Fator X para Fator Xa na presença de fosfolipídios e cálcio. O Fator X cliva a protrombina em trombina, o que converte o fibrinogênio em fibrina, levando a uma formação de coágulo detectável no plasma. Essa ativação direta do Fator X dispensa as vias de contato e intrínsecas na cascata de coagulação, excluindo, assim, a interferência de deficiências dos Fatores VIII, IX, XI e XII ou de seus respectivos inibidores. Um DVVtest positivo é indicado por uma prolongação significativa do tempo de coagulação dependente de fosfolipídios (>2 desvios padrão acima da média de referência normal do laboratório). Se existe a suspeita de que um paciente possui AL, o DVVtest também pode ser realizado em amostras com um TTPa normal, pois a diluição e o tipo de fosfolipídios contidos no reagente do DVVtest aumentam a sensibilidade e a especificidade do teste aos AL⁶.

O DVVconfirm é o ensaio de coagulação com alta concentração de fosfolipídios usado em conjunto com o DVVtest para confirmar a presença de AL no plasma⁷. O DVVconfirm é formulado com um ativador isolado do veneno da víbora de Russell e uma alta concentração de fosfolipídios. O tempo de coagulação de um plasma contendo AL deve ser significativamente mais curto com o DVVconfirm em comparação com o DVVtest. A presença de AL em amostras de plasma é confirmada quando a razão entre o tempo de coagulação do DVVtest e o tempo de coagulação do DVVconfirm é maior que o intervalo da Razão DVVtest/DVVconfirm de referência normal do laboratório (razão normal média ± 2 DP).

REAGENTES



Os reagentes do DVVtest e do DVVconfirm são fornecidos liofilizados e consistem em misturas patenteadas do ativador isolado do veneno da víbora de Russell, cálcio, fosfolipídios, bem como aditivos e conservantes inertes. Os frascos não abertos armazenados a 2°C–8°C são estáveis até a data de expiração impressa no rótulo.

Os reagentes do DVVtest são embalados em dois tamanhos de frascos: REF 810, inclui 10 frascos, com cada frasco contendo reagente para 20 testes, tal como realizado pela maioria dos métodos automatizados; REF 825, inclui 10 frascos, com cada frasco contendo reagente para 50 testes, tal como realizado pela maioria dos métodos automatizados.

Os reagentes do DVVconfirm são embalados em dois tamanhos de frascos: REF 815, inclui 10 frascos, com cada frasco contendo reagente para 10 testes, tal como realizado pela

maioria dos métodos automatizados; REF 815L, inclui 10 frascos, com cada frasco contendo reagente para 20 testes, tal como realizado pela maioria dos métodos automatizados.

AVISO

DVVtest®	Aviso		H319, H412, P264, P273, P280, P305 + P351 + P338, P337 + P313		
DVVconfirm®	Perigo		CONT	Imidazol	H315, H318, H360, H421, P202, P280, P273, P302 + P352, P332 + P313, P305 + P351 + P338

H315 Provoca irritação à pele.

H318 Provoca lesões oculares graves.

H319 Provoca irritação ocular grave.

H360 Pode prejudicar a fertilidade ou o feto.

H412 Prejudicial para a vida aquática com efeitos duradouros.

P202 Não manuseie o produto antes de ter lido e compreendido todas as precauções de segurança.

P264 Lave as mãos cuidadosamente após o manuseio.

P273 Evite a liberação para o meio ambiente.

P280 Use luvas de proteção/roupa de proteção/proteção ocular/proteção facial.

P302 + P352 EM CASO DE CONTATO COM A PELE: Lave com água em abundância.

P305 + P351 + P338 EM CASO DE CONTATO COM OS OLHOS: Enxágue cuidadosamente com água durante vários minutos. No caso de uso de lentes de contato, remova-as, se for fácil. Continue enxaguando.

P332 + P313 Em caso de irritação cutânea: consulte um médico.

P337 + P313 Se a irritação ocular persistir: consulte um médico.

COLETA E PREPARO DE AMOSTRAS

As amostras de sangue podem ser coletadas usando seringas ou tubos de vácuo siliconizados. Misture nove partes de sangue com uma parte de 3,2% ou 3,8% (109 ou 129 mM) da forma di-hidratada do citrato trissódico. Se o hematócrito do paciente for superior a 55%, os resultados do DVVtest e do DVVconfirm poderão ser imprecisos e exigirão um ajuste

da razão sangue/anticoagulante⁸. Depois de misturar, centrifugue as amostras de, no mínimo, 5.000 x g por 10 minutos. É imperativo que todos os plasmas testados usando esse reagente sejam pobres em plaquetas, com menos de 10⁴ plaquetas/ μ l, especialmente antes do seu congelamento. Caso contrário, poderá ocorrer algum encurtamento dos resultados dos testes, o que pode mascarar a presença de AL⁵. Isso pode ser obtido por meio da etapa de centrifugação acima ou pela filtragem do plasma com um filtro de 0,22 microns. O plasma coletado pode ser armazenado a 2°C–8°C, mas deve ser testado dentro de quatro horas. Em alternativa, o plasma pode ser rapidamente congelado e armazenado a –70°C por até seis meses. Os plasmas congelados devem ser descongelados rapidamente a 37°C antes do uso e testados imediatamente ou armazenados por, no máximo, duas horas a 2°C–8°C⁸.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Plasma de controle anormal LAtrol™ (REF 816A), Plasma de controle normal LAtrol™ (REF 816N)¹⁰ ou equivalente

Pipetas com capacidade volumétrica de entrega de 100 μ l até 5,0 ml

Água deionizada ou destilada purificada



PREPARO E ESTABILIDADE DE REAGENTES

OBSERVAÇÃO: O liofilizado do DVVconfirm tem uma aparência de pó; contudo, o liofilizado do DVVtest pode parecer cristalino.

Reconstitua cada frasco do reagente com água deionizada, de acordo com as instruções do rótulo.

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

Misture bem o reagente e deixe em repouso à temperatura ambiente por pelo menos 15 minutos para garantir uma dissolução completa. Depois de reconstituído, o reagente permanecerá estável por:

	24 horas	5 dias	1 mês
	20°C–25°C	2°C–8°C	–20°C

O reagente reconstituído pode ser recuperado de reservatórios de reagentes de instrumentos desde que o tempo de estabilidade de 24 horas à temperatura ambiente não tenha passado.

O reagente reconstituído pode ser congelado em tubos plásticos de armazenamento para garantir sua estabilidade.

Para usar um reagente congelado, descongele-o por, pelo menos, 10 minutos a 37°C e agite bem no vórtex antes do uso.

PROCEDIMENTOS DE TESTE

O DVVtest e o DVVconfirm podem ser realizados manualmente ou por meio de analisadores de coagulação semiautomatizados ou automatizados.

São adicionados volumes iguais de reagente e amostra (ou seja, 100 µl de DVVtest ou DVVconfirm e 100 µl de plasma de amostra). Os resultados do DVVtest ou do DVVconfirm são reportados em tempo (segundos). O reagente reconstituído deve ser misturado bem antes do uso. O reagente e o plasma de amostra devem ser incubados a 37°C por, pelo menos, dois minutos antes dos testes. Use tubos de reagente dedicados e coloque barras de agitação magnéticas nos reservatórios de reagentes. Realize um procedimento de enxágue e/ou limpeza após usar o reagente, especialmente em instrumentos que não possuem tubos de reagente dedicados, antes de realizar outros ensaios cromogênicos ou de coagulação.

A BioMedica Diagnostics oferece Aplicações de instrumentos para vários analisadores de coagulação. Essas Aplicações de instrumentos podem conter dados de programação e desempenho específicos da plataforma que diferem dos dados fornecidos nestas Instruções de uso. Nesses casos, as informações contidas na Aplicação de instrumento substituem as informações desta Instrução de uso. Consulte o manual do instrumento do fabricante específico para obter as instruções de operação completas.

CONTROLE DE QUALIDADE

Os plasmas de controle normal e anormal de AL devem ser testados com cada grupo de ensaios, com uma mudança de pessoal ou de turno de trabalho e a cada 40 amostras¹¹. Os plasmas de controle devem ser pobres em plaquetas, com menos de 10⁴ plaquetas/µl. Os plasmas normal e anormal LAtrol (REF 816A e 816N)¹⁰ podem ser usados para controle de

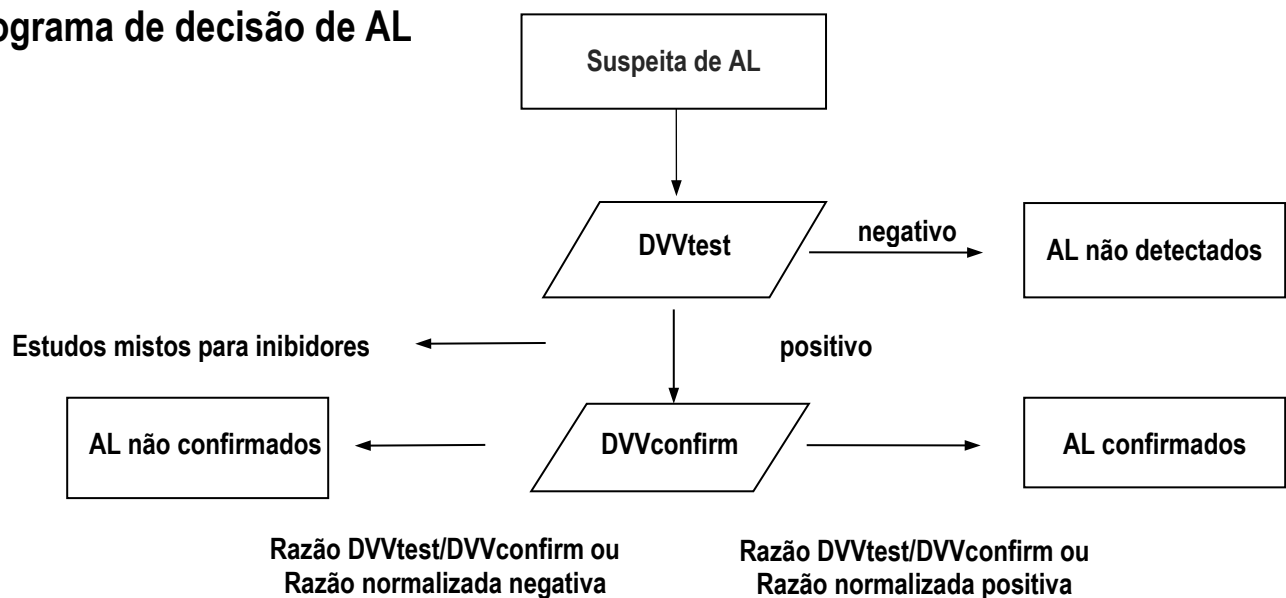
qualidade. Os valores dos plasmas de controle normal e anormal de AL devem estar dentro dos intervalos de controle estabelecidos pelo laboratório antes que as amostras do paciente sejam testadas⁸.

INTERVALO DE REFERÊNCIA NORMAL

Cada laboratório deve estabelecer seu próprio intervalo de referência normal para o DVVtest e o DVVconfirm (valor médio \pm 2 DP). Deve ser usado um mínimo de 20 plasmas de doadores de sangue saudáveis representativos da população de pacientes, incluindo homens e mulheres e abrangendo a faixa etária adulta (consulte os VALORES ESPERADOS). Ao estabelecer o intervalo de referência normal, trate as amostras de plasma normal da mesma forma que as amostras de teste. Caso sejam testadas apenas amostras congeladas, os intervalos normais devem ser estabelecidos com base somente em amostras normais congeladas. Não é recomendado testar populações de plasma misto de amostras recentes e congeladas para os intervalos de referência ou para testes de rotina. DEVE ser estabelecido um novo intervalo de referência normal sempre que houver uma alteração no número de lote do reagente, no instrumento ou pelo menos uma vez por ano (o que ocorrer primeiro). Obtenha dados de um período de vários dias para determinar a variação entre dias.

INTERPRETAÇÃO E COMUNICAÇÃO DOS RESULTADOS

Fluxograma de decisão de AL



Resultados do DVVtest

Se o tempo do plasma de amostra do DVVtest estiver dentro do intervalo de referência normal estabelecido pelo laboratório (média \pm 2 DP), o teste será negativo para AL.

Se o tempo do plasma de amostra do DVVtest for maior que \pm 2 DP acima da média da referência normal, o teste será positivo para AL.

OBSERVAÇÃO: Um DVVtest positivo indica que há presença de AL ou que o plasma pode conter uma deficiência de Fator II, V ou X. Quando o DVVtest for positivo, a presença de AL deverá ser confirmada ao repetir o teste usando o DVVconfirm para obter uma Razão DVVtest/DVVconfirm (consulte abaixo). O teste DVVconfirm deve ser realizado na mesma amostra de paciente e no mesmo dia em que o DVVtest foi realizado. Os estudos mistos devem ser realizados para determinar a presença de uma deficiência de fatores.

Resultados do DVVconfirm

Se uma amostra apresentar um resultado positivo no DVVtest, o teste DVVconfirm deverá ser realizado. Os resultados dos testes DVVconfirm podem ser reportados usando a Razão DVVtest/DVVconfirm ou a Razão normalizada.

- 1) A Razão DVVtest/DVVconfirm é calculada ao dividir o tempo do DVVtest (segundos) pelo tempo do DVVconfirm (segundos), como se segue:

$$\text{A Razão DVVtest/DVVconfirm} = \text{DVVtest (seg)} \div \text{DVVconfirm (seg)}$$

A Razão DVVtest/DVVconfirm deve ser determinada para plasmas de referência normal. A razão do plasma de teste quando superior a 2 desvios padrão acima da média da Razão DVVtest/DVVconfirm de referência normal do laboratório confirma um teste positivo para AL. Se o resultado da Razão DVVtest/DVVconfirm estiver dentro do intervalo de razão de referência normal, o teste será negativo para AL ou haverá presença de outras anormalidades.

- 2) A Razão normalizada é calculada da seguinte forma:

$$\text{Razão normalizada} = \frac{\text{DVVtest (amostra)} \div \text{DVVtest (média de referência normal)}}{\text{DVVconfirm (amostra)} \div \text{DVVconfirm (média de referência normal)}}$$

Somente exemplo: DVVtest do paciente: 58,9 segundos
 DVVconfirm do paciente: 32,2 segundos
 Média do DVVtest: 35,8 segundos
 Média do DVVconfirm: 32,8 segundos

$$\text{Razão normalizada} = \frac{58,9 \div 35,8}{32,2 \div 32,8} = \frac{1,64}{0,98} = 1,67$$

Interpretação dos resultados da razão normalizada

Razão normalizada	Status de AL
> 2,0	AL com presença forte
1,5 a 2,0	AL com presença moderada
1,2 a 1,5	AL com presença fraca

Os resultados do teste podem ser reportados como positivo/negativo para AL ou ao reportar a Razão DVVtest/DVVconfirm ou a Razão normalizada. Ao reportar os resultados da razão, o valor do intervalo de referência também deve ser reportado.

VALORES ESPERADOS

Intervalos de referência normal (± 2 DP)¹²

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

Os intervalos de referência foram gerados pela BioMedica Diagnostics, em conformidade com o Documento H21-A5 do CLSI⁸. Os doadores incluem homens e mulheres, abrangendo a faixa etária adulta e com valores de TP e TTPa normais.

Esses resultados devem ser usados somente como guia. Os resultados irão variar entre laboratórios, e cada local de teste deve estabelecer seu próprio intervalo de referência normal para todos os instrumentos e métodos empregados.

SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES

As amostras suspeitas de conter inibidores dos Fatores II, V ou X podem gerar resultados positivos falsos.

Se o DVVtest for realizado em plasmas com níveis elevados do Fator VIII (superior a 200%), o reagente poderá não identificar a presença de AL, gerando um resultado negativo falso¹².

Os anticoagulantes orais e outros antagonistas da vitamina K podem prolongar os tempos do DVVtest e do DVVconfirm. Em 2006, foi publicada uma atualização dos critérios de classificação da Síndrome do anticorpo antifosfolípídeo (SAF)¹³. A atualização recomenda que, se o paciente estiver tomando um anticoagulante oral, a amostra do paciente deve ser diluída na proporção de 1:2 com plasma normal (1 parte de plasma do paciente + 1 parte de plasma normal) antes da realização do teste, desde que a RNI (Razão normalizada internacional) seja <3,5. Quando a RNI >3,5, os testes de AL não devem ser tentados.

Se o laboratório não souber que o paciente está tomando um anticoagulante oral, os resultados de teste do DVVconfirm devem ser analisados cuidadosamente. Se o DVVconfirm não mostrar uma correção significativa (um tempo de coagulação mais curto) em relação ao DVVtest e for prolongado em relação ao tempo do DVVconfirm para plasma normal, haverá a suspeita da presença de um anticoagulante oral. Nesse caso, a amostra do paciente deve ser misturada na proporção de 1:2 com plasma normal e o DVVtest deve ser realizado novamente. Se o tempo de coagulação do DVVtest ainda for prolongado, o DVVconfirm também deverá ser realizado na mistura com proporção de 1:2 para confirmar se os resultados do DVVtest são dependentes de fosfolipídios.

O DVVtest e o DVVconfirm contêm agentes que neutralizam a heparina não fracionada padrão até e inclusive 1,0 U/ml. Os plasmas com níveis de heparina maiores que 1,0 U/ml podem gerar resultados elevados com esses testes. Algumas heparinas de baixo peso molecular (HBPM) podem interferir no DVVtest. Estudos demonstraram que o plasma misturado com 2,0 unidades/ml de Fragmin® (injeção de deltaparina sódica) não interferiu nos resultados do ensaio. O plasma misturado com Lovenox® (injeção de enoxaparina sódica) em concentrações superiores a 0,25 unidades/ml interferiu nos resultados do ensaio¹².

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Não teste amostras hemolizadas, lipêmicas ou ictéricas.

As amostras suspeitas de apresentarem deficiências de Fator II, V ou X devem ser testadas usando estudos mistos.

As amostras devem ser testadas usando pelo menos outro teste de AL baseado na coagulação, visto que nenhum teste é capaz de identificar absolutamente a presença de Anticoagulantes lúpicos em todos os plasmas⁵.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Precisão

Os ensaios com o DVVtest e o DVVconfirm foram realizados em um programa de controle de qualidade pela BioMedica Diagnostics e dois laboratórios independentes. O Coeficiente de variação (CV) geral para plasmas normais foi inferior a 4,0% para o DVVtest e inferior a 5,0% para o DVVconfirm. Para plasmas anormais, o CV geral foi inferior a 6,5% para o DVVtest e inferior a 5,0% para o DVVconfirm¹².

Especificidade

Os reagentes do DVVtest e do DVVconfirm foram testados¹² usando plasma normal e plasma anormal, conforme descrito abaixo.

Amostra de plasma	DVVtest/DVVconfirm positivo
Plasma de anticoagulante lúpico	100% (17/17)
Plasma normal	2,1% (2/96)
Plasma heparinizado	0% (0/2)
Plasma deficiente de fator	0% (0/8)
Plasma com inibidor do fator VIII	0% (0/2)

RESUMO DE SEGURANÇA E DESEMPENHO CLÍNICO

O Resumo de Segurança e Desempenho Clínico (SCCP) está disponível na Base de Dados Europeia de Dispositivos Médicos (Eudamed), em <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> sob o seguinte UDI-DI básico (GMN):






REF 810 0062794400205C REF 815 0062794400215E
REF 825 0062794400255N REF 815L 0062794400315H

REFERÊNCIAS

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.

DEFINIÇÃO DOS SÍMBOLOS

	Consulte as Instruções de uso	LOT	Código do lote/número do lote
	Limitação de temperatura: Armazenar entre 2°C e 8°C	REF	Número de catálogo
	Fabricado por		Prazo de validade/Data de expiração
CONT	Contém...		Contém o suficiente para <n> testes