

**Aplicação Prevista**

Reagentes para teste de veneno de víbora de Russell diluído (TVVRD) para a detecção de Anticoagulantes Lúpicos em plasma humano citratado, para os Sistemas de Coagulação IL.  
**LAC Screen:** reagente (TVVRD) simplificado para monitorizar a presença de Anticoagulantes Lúpicos.  
**LAC Confirm** reagente (TVVRD) rico em Fosfolípidos, para confirmar a presença de Anticoagulantes Lúpicos.  
 Estes testes estão indicados em doentes que tenham um TTPA prolongado sem causa conhecida.

**Resumo e Princípio**

O Anticoagulante Lúptico (AL) pertence a um grupo heterogéneo de anticorpos que são dirigidos contra fosfolípidos de carga negativa ou contra complexos formados entre fosfolípidos e proteínas (beta-2-glicoproteína 1 ou factores de coagulação, como a protrombina). Estes anticoagulantes interferem com as provas de coagulação em que participam os fosfolípidos, tais como o Tempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPA), o Teste de Veneno de Víbora de Russell Diluído (TVVRD) e outros. Doentes com AL têm maior probabilidade de sofrer manifestações trombóticas e abortos de repetição.<sup>1,2,3,4</sup>  
 O LAC Screen e o LAC Confirm foram desenvolvidos para simplificar e padronizar a detecção de AL em avaliações clínicas.<sup>1</sup> O LAC Screen possui uma concentração baixa de fosfolípidos, o que faz com que o reagente seja altamente sensível à presença do AL, alargando o tempo de coagulação na presença deste. Uma alta concentração de fosfolípidos no LAC Confirm neutraliza o AL e encurta os tempos de coagulação. O veneno de víbora de Russell, na presença de cálcio, activa directamente o Factor X da amostra. O LAC Screen e o LAC Confirm não são alterados por anormalidades nos factores de contacto, défices nos Factores VII, VIII e IX ou inibidores. Não existe interferência por níveis de heparina até 1 U/mL, uma vez que é neutralizada pelo polibrene. Em conclusão, o LAC Screen e o LAC Confirm são técnicas mais específicas que o TTPA, no que diz respeito à detecção do AL.<sup>5</sup>

**Composição**

Cada kit de LAC é composto por:

- LS** LAC Screen (Núm. Cat. 0020008000): recipientes 10 x 2 mL de uma preparação liofilizada que contém veneno de víbora de Russell, fosfolípidos, cálcio, polibrene, tampões, estabilizadores, corantes e conservantes.
- LC** LAC Confirm (Núm. Cat. 0020008200): recipientes 10 x 2 mL de uma preparação liofilizada que contém veneno de víbora de Russell, fosfolípidos, cálcio, polibrene, tampões, estabilizadores, corantes e conservantes.

**AVISOS E PRECAUÇÕES:**

Todos os reagentes contêm menos de 0,1% de azida de sódio, que pode formar azidas explosivas em contacto com o chumbo e cobre das canalizações. Utilize os métodos de eliminação adequados.  
 Evitar o contacto com a pele e os olhos (S 24/25). Não deitar os resíduos no esgoto (S 29). Usar vestuário de protecção adequado (S 36).  
 Para uso em diagnóstico *in vitro*.

**Preparação**

Dissolver o conteúdo de cada recipiente em 2 mL de água destilada (tipo II de acordo com a NCCLS).<sup>6</sup> Fechar o recipiente e homogeneizar suavemente. Verificar se o produto fica completamente dissolvido. Conservar o reagente entre 15 e 25°C durante 30 minutos. Misturar invertendo o recipiente, antes de utilizar. Não agitar.

**Conservação e estabilidade do reagente**

Os reagentes fechados, que ainda não foram utilizados, são estáveis até ao final do prazo de validade, que consta no rótulo, desde que conservados entre 2-8°C. Estabilidade depois da reconstituição: 24 horas a 15-25°C, 48 horas a 2-8°C, 1 mês a -20°C dentro do recipiente original, 2 dias a 15°C nos Sistemas ACL Futura®/ACL Advance sem qualquer agitação ou 3 dias a 15°C no ACL TOP™ sem qualquer agitação. Não recongelar.

Para obter uma estabilidade óptima retire os reagentes do aparelho e conserve-os entre 2-8°C, nos recipientes originais.

**Recolha, preparação e manuseamento das amostras**

Adicionar nove partes de sangue extraído recentemente por punção venosa a uma parte de citrato trissódico. Para efectuar a recolha, o manuseamento e a conservação da amostra devem seguir-se as recomendações referidas no documento H21-A4 da NCCLS.<sup>7</sup>

A congelação dos plasmas pode libertar fosfolípidos provenientes das plaquetas, os quais podem encurtar os tempos de coagulação do LAC Screen. É aconselhável efectuar uma centrifugação dupla ou uma filtração com filtros de 0,2 microns, para eliminar as plaquetas antes de congelar.

**Métodos de ensaio**

Recomenda-se que o LAC Screen e o LAC Confirm sejam utilizados juntos.

**Método ACL® (100 - 7000)**

- No menu PROG seleccionar Tempo de Aquisição. Seleccionar Tempo de Trombina e Tempo Estendido.
- Colocar os plasmas na placa de amostras.
- Colocar o reagente LAC Screen ou LAC Confirm na Posição 1.
- No menú principal de Testes seleccionar Tempo de Trombina e dar início à análise.
- Os resultados (em segundos) serão visualizados no ecrã e serão impressos.
- Os resultados serão utilizados para calcular os Rácios.

**Método ACL Futura/ACL Advance, ACL 8000/9000/10000 e ACL TOP**  
 Seguir as instruções da técnica de acordo com o Manual do Operador dos aparelhos IL.

**Controlo de Qualidade**

Para realizar um programa completo de Controlo de Qualidade, recomenda-se a utilização dos controlos normais e anormais.<sup>8</sup> Cada laboratório deve estabelecer a sua própria média e desvio padrão e deve efectuar um programa de controlo de qualidade para monitorizar os seus resultados. Os controlos devem ser analisados uma vez em cada turno de 8 horas, de acordo com a norma vigente no Laboratório. Ver Manual do Operador para mais informações. Consultar a publicação de Westgard e col. para identificar e solucionar situações anormais do Controlo de Qualidade.<sup>9</sup>

**Resultados**

Para calcular os Rácios do LAC Screen e do LAC Confirm aconselha-se o seguinte método:

- Para cada lote de LAC Screen e de LAC Confirm deve obter-se um Limite de Normalidade de acordo com o documento H21-A4 (VOL. 23, N° 35) da NCCLS.
- Calcular a Média de cada Limite de Normalidade em segundos.
- A Média de cada Limite de Normalidade será utilizada como denominador comum para calcular os Rácios.

**LAC Screen**

- O resultado (em segundos) de cada doente será dividido pela Média do Limite de Normalidade do LAC Screen.

$$\text{Rácio LAC Screen} = \frac{\text{Resultado do doente (segundos)}}{\text{Média do Limite de Normalidade (segundos)}}$$

- Se o tempo de coagulação do LAC Screen está dentro do intervalo normal, podem não ser necessárias mais análises ao LA.
- Se o tempo de coagulação do doente for 20% maior que a Média do Limite de Normalidade do LAC Screen (ex. Rácio > 1,2), a presença de AL deverá ser confirmada com o LAC Confirm.

**LAC Confirm**

- O resultado (em segundos) de cada doente será dividido pela Média do Limite de Normalidade do LAC Confirm.

$$\text{Rácio LAC Confirm} = \frac{\text{Resultado do doente (segundos)}}{\text{Média do Limite de Normalidade (segundos)}}$$

- O Rácio do LAC Screen será dividido pelo Rácio do LAC Confirm, para obter o Rácio Normalizado de LAC.

$$\text{Rácio Normalizado LAC} = \frac{\text{Rácio do LAC Screen}}{\text{Rácio do LAC Confirm}}$$

**Interpretação**

- O resultado final será expresso como Rácio Normalizado do LAC:  
 Rácio maior que 2,0 Forte presença de AL.  
 Rácio entre 1,5 - 2,0 Presença média de AL.  
 Rácio entre 1,2 - 1,5 Presença fraca de AL.
- Se o Rácio for < 1,2 e os tempos de coagulação do LAC Screen e do LAC Confirm forem prolongados, é aconselhável realizar estudos de mistura. A mistura de plasma normal com plasma de teste, incorpora no plasma deficiente, os factores em défice.

**Limitações/Interferências**

As amostras que apresentem hemólise, icterícia ou lipemia excessivas não deverão ser utilizadas, uma vez que podem dar falsos resultados.  
 Concentrações de Hemoglobina até 400 mg/dL e Bilirrubina até 20 mg/dL e Triglicéridos até 295 mg/dL não alteram os resultados da LAC Screen/LAC Confirm nos Sistemas ACL Futura/ACL Advance.  
 Concentrações de Hemoglobina até 100 mg/dL, Bilirrubina até 21,7 mg/dL e Triglicéridos até 329 mg/dL não alteram os resultados da LAC Screen/LAC Confirm nos Sistemas ACL.  
 Concentrações de Hemoglobina até 125 mg/dL e Bilirrubina até 13 mg/dL não alteram os resultados da LAC Screen/LAC Confirm no ACL TOP. Não utilizar amostras turvas ou que apresentem lipemia.  
 Os ensaios LA baseados em diferentes propriedades, parecem ser mais ou menos sensíveis a determinados sub-grupos de LA. Portanto, devem ser realizados, pelo menos dois testes de rastreio, baseados em propriedades diferentes, antes da exclusão da possibilidade de LA<sup>10</sup>

**Valores esperados**

Efectuou-se um estudo ao limite de normalidade utilizando os LAC Screen e LAC Confirm para os Sistemas de Coagulação IL.

Sistema	Rácio Normalizado de LAC
Família ACL e ACL Futura/ACL Advance	0,8 - 1,2
ACL TOP	0,9 - 1,1

Estes resultados foram obtidos utilizando o mesmo lote de reagentes. Devido à variáveis que podem afectar os tempos de coagulação, cada laboratório deve estabelecer o seu próprio limite de normalidade.

**Características técnicas**

A precisão foi avaliada, intra e na totalidade (de análise para análise e de dia para dia), ao longo de vários ensaios, com amostras normais e anormais.

Família ACL	Média (Rácio Normalizado de LAC)	CV % (Intra-série)	CV % (Total)
Amostra normal	0,93	1,16	1,70
Amostra AL fraca	1,33	0,84	3,02
Amostra AL forte	2,03	3,63	4,55

ACL Futura/ACL Advance	Média (Rácio Normalizado de LAC)	CV % (Intra-série)	CV % (Total)
Amostra normal	1,00	1,1	2,2
Amostra AL fraca	1,31	1,2	1,9
Amostra AL forte	1,81	1,7	2,2

ACL TOP	Média (Rácio Normalizado de LAC)	CV % (Intra-série)	CV % (Total)
Amostra normal	0,97	1,6	2,5
Amostra AL fraca	1,30	1,9	2,4
Amostra AL forte	1,82	2,7	2,9

Foi encontrado um Rácio Normalizado de LAC > 1,2 nas seguintes amostras utilizando o LAC Screen/LAC Confirm:

AL conhecido	90% (26/29)
Heparina	12% (1/8)
Varfarina	0% (0/7)
Normais	2% (1/60)
Deficiência de Factores	0% (0/5)

**Correlação:**

Unidade	sistema	declive	intersecção	r	Método de Referência
Rácio Normalizado de LAC	ACL Futura/ACL Advance	0,922	0,048	0,988	LAC Screen/Confirm em ACL (100 - 7000)
Rácio Normalizado de LAC	ACL 8000/9000 10000	0,926	0,075	0,994	LAC Screen/Confirm em ACL (100 - 7000)
Rácio Normalizado de LAC	ACL TOP	1,009	-0,022	0,996	LAC Screen/Confirm em ACL Advance






A precisão e os dados de correlação foram obtidos através da utilização de lotes específicos de reagentes e de controlos.

Bibliography / Literatur / Bibliografia / Bibliographie / Bibliografia / Bibliografia / Litteratur / Litteraturförteckning / Βιβλιογραφία

1. Love PE, Santoro SA. Antiphospholipid Antibodies: Anti Cardiolipin and the Lupus Anticoagulant in Systemic Lupus Erythematosus (SLE) and in Non-SLE Disorders, Ann. Int. Med. 1990; 112: 682-698.
2. Exner T, Triplett DA, Taberner D, Machin SJ. Guidelines for Testing and Revised Criteria for Lupus Anticoagulants, Thromb. Haemostas. 1991; 65: 320-322.
3. Rauch J, Tannebaum M and Janoff AS. Distinguishing Plasma Lupus Antifactor Antibodies using Hexagonal Phase II Phospholipids, Thromb. Haemostas. 1989; 62: 892-896.
4. Feinstein DI. Lupus Anticoagulant, Thrombosis and Fetal Loss, N. Eng. J. Med. 1985; 313: 1248-1350.
5. Thiagarajan P, Pengo V, Shapiro SS. The use of the Dilute Russell's Viper Venom Time for the Diagnosis of Lupus Anticoagulants, Blood Coag. Fibrinol. 1990; 1: 259-266.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Preparation and Testing of Reagent Water in the Clinical Laboratory, Third Edition, NCCLS Document C3-A3; Vol. 17 No. 18.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays, Fourth Edition, NCCLS Document H21-A4; Vol. 23 No. 35.
8. Zucker S, Cathey MH, West B. Preparation of Quality Control Specimen for Coagulation, Am. J. Pathol. 1970; 53: 924-927.
9. Westgard JO and Barry PL. Cost-Effective Quality Control: Managing the Quality and Productivity of Analytical Process, AACC Press 1986.
10. Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharrer I, Criteria for the Diagnosis of Lupus Anticoagulants: An Update. Thromb.Haemostas. 1995, 74 (4), 1185-90

ACL, ACL Futura and ACL TOP are trademarks of Instrumentation Laboratory Issued February 2005

Symbols used / Verwendete Symbole / Símbolos utilizados / Symboles utilisés / Simboli impiegati / Símbolos utilizados / Anvendte symboler / Använda Symboler / Χρησιμοποιηθέντα σύμβολα

<p><b>IVD</b></p> <p><i>In vitro</i> diagnostic medical device  <i>In-vitro</i> Diagnostikum          De uso diagnóstico <i>in vitro</i>          Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>          Per uso diagnóstico <i>in vitro</i>          Dispositivo médico para utilização <i>in vitro</i>          "in vitro" diagnostisk udstyr  <i>In vitro</i> diagnostisk medicinsk produkt</p> <p>Προϊόν <del>in vitro</del> γνωστικής χρήσης</p>	<p><b>LOT</b></p> <p>Batch code          Chargen-Bezeichnung          Caducidad          Identificación número de lote          Désignation du lot          Numero del lotto          Número de lote          Batch nr.          Tillverkningskod</p> <p>Αρ. Παρτίδας</p>	<p></p> <p>Use by          Verwendbar bis          Caducidad          Utilisable jusqu'à          Da utilizzare prima del          Data limite de utilização          Anvendelse          Användning</p> <p>Χρήση έως</p>	<p></p> <p>Temperature limitation          Festgelegte          Temperatur          Temperatura de          Almacenamiento          Températures limites de conservation          Limiti di temperatura          Limite de temperatura          Temperatur          begrænsninger          Temperatur gråns</p> <p>Περιορισμοί θερμοκρασίας</p>	<p></p> <p>Consult instructions for use          Beilage beachten          Consultar la metódica          Lire le mode d'emploi          Vedere istruzioni per l'uso          Consultar as instruções de utilização          Se vejledning for anvendelse          Ta del av instruktionen före användning</p> <p>Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης</p>	<p><b>CONTROL</b></p> <p>Control          Kontrollen          Control          Contrôle          Controllo          Controllo          Kontrol          Kontroll</p> <p>Υλικό ποιοτικού ελέγχου</p>	<p></p> <p>Biological risks          Biologisches Risiko          Riesgo biológico          Risque biologique          Rischio biologico          Risco biológico          Miljø oplysninger          Biologiska risker</p> <p>Βιολογικοί κίνδυνοι</p>	<p></p> <p>Manufacturer          Hergestellt von          Fabricado por          Fabricant          Prodotto da          Fabricado por          Producent          Tillverkare</p> <p>Κατασκευαστής</p>	<p><b>EC REP</b></p> <p>Authorised representative          Bevollmächtigter          Representante autorizado          Mandataire          Rappresentanza autorizzata          Representante autorizado          Leverandør          Auktoriserad representant</p> <p>Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος</p>
--	---	--	--	--	---	---	--	---