



## INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

## L.E.S. LATEX

## TESTE DE AGLUTINAÇÃO DE LÁTEX EM LÂMINA PARA A DETERMINAÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-N-DNA ASSOCIADOS AO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO (L.E.S.)

## 1 - SIGNIFICADO CLÍNICO E UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

Apenas para diagnóstico *in vitro*

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica de causa desconhecida que afeta múltiplos sistemas orgânicos (articulações, pele, rins, sistema nervoso central, coração, pulmões). As anomalias imunológicas, especialmente a produção de vários anticorpos antinucleares (ANA), são outra característica proeminente desta doença. O percurso clínico é marcado por remissões e recaídas espontâneas. As suas manifestações multissistêmicas e as complicações decorrentes do uso de agentes imunossupressores tornam o diagnóstico e a gestão desta entidade um desafio. A detecção de anticorpos ANA por métodos laboratoriais inclui imunofluorescência, teste de células LE e aglutinação de partículas de látex revestidas. Acredita-se que estes anticorpos anti-DNP causam a formação da célula LE *in vitro*, ocorrendo este acontecimento invulgar em 75-80% dos doentes diagnosticados como tendo LES. Alguns doentes com sintomas sugestivos de LES tinham sido considerados negativos com o Teste de Células LE. Nestes indivíduos, os anticorpos ANA podem ser demonstrados por outros métodos que não o teste de células LE, como aglutinação de látex ou imunofluorescência.

L.E.S. LATEX é um procedimento rápido de aglutinação, desenvolvido para a detecção direta e semiquantificação em lâmina de anticorpos anti-desoxirribonucleoproteína (anti-DNP) em soro humano.

## 2 - PRINCÍPIO DO MÉTODO

O ensaio é realizado testando uma suspensão de partículas de látex revestidas com DNP contra soros desconhecidos. A presença ou ausência de uma aglutinação visível indica a presença ou ausência de anticorpos anti-DNP nas amostras testadas.

## 3 - MATERIAIS FORNECIDOS - EMBALAGEM

Produto	Tipo	REF	Conteúdo
L.E.S. LATEX CND: W0102100116 EDMA: 12.10.01.16; RDM: 1555421/R	Teste de aglutinação de látex	UB80800 (62 testes)	1 frasco de vidro contendo látex para L.E.S., suspensão de partículas de látex de poliestireno revestido com DNP (tímo de bezerro) numa solução tamponada. Contém azida de sódio < 0,1% (3,1 mL = 62 testes) 1 frasco de vidro contendo Controlo Positivo: soro humano com atividade anti-DNP. Contém azida de sódio < 0,1% (0,5 mL) 1 frasco de vidro contendo controlo negativo: controlo líquido estabilizado. Contém azida de sódio < 0,1% (0,5 mL) Lâminas. 6 áreas de teste: folhas plásticas à prova de água para reação (11 itens) Varetas (1x25): varetas de plástico para misturar (3 itens) Embalagem secundária: caixa de cartão.
L.E.S. CONTROLLO CND: W0102100116 EDMA: 12.50.01.13; RDM: 1555441/R	Controlos para teste de aglutinação de látex	UD80802 (2x0,5 mL)	1 frasco de vidro contendo Controlo Positivo: soro humano com atividade anti-DNP. Contém azida de sódio <0,1% (0,5 mL) 1 frasco de vidro contendo controlo negativo: controlo líquido estabilizado. Contém azida de sódio <0,1% (0,5 mL) Embalagem secundária: caixa de cartão.

## 4 - MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Agitador mecânico com velocidade ajustável a 80-100 r.p.m. Cronómetro ou relógio. Pipetas. Solução salina (9 g/L NaCl, apenas para procedimento semiquantitativo).

## 5 - PRECAUÇÕES E AVISOS

- L.E.S. LATEX é um kit para diagnóstico *in vitro*, apenas para uso profissional; deve ser utilizado por pessoal de laboratório adequadamente formado e qualificado.
- Os componentes de origem humana foram testados e considerados negativos para a presença de anticorpos anti-HIV 1+2 e anti-HCV, bem como para HBsAg. No entanto, os controlos devem ser tratados com precaução como potencialmente infecciosos.
- A sensibilidade do teste pode ser reduzida a baixas temperaturas. Deixar que os reagentes e as amostras atinjam a temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F) antes da sua utilização para obter melhores resultados.
- Não utilizar após a data de validade ou se a embalagem estiver danificada. A qualidade do reagente não pode ser garantida depois da sua data de validade ou se os reagentes forem armazenados em condições inadequadas.
- Devem ser seguidas as precauções normais exercidas no manuseamento de reagentes de laboratório. Eliminar os resíduos seguindo todas as regulamentações locais ou nacionais. Consultar a Ficha de Dados de Segurança do Material para qualquer informação atualizada sobre riscos, perigos ou segurança.
- Todas as operações ligadas à utilização do teste devem ser realizadas em conformidade com as Boas Práticas de Laboratório.
- Todas as amostras devem ser consideradas potencialmente perigosas e manuseadas da mesma forma que um agente infeccioso.
- Os Certificados de Análise e a Ficha de Dados de Segurança do produto estão disponíveis no website [www.masciabrunelli.it](http://www.masciabrunelli.it).
- As informações fornecidas neste documento foram elaboradas com o melhor dos nossos conhecimentos e capacidades e representam uma orientação para a utilização adequada do produto, mas sem obrigação ou responsabilidade. Em todo o caso, o utilizador final deve respeitar as leis, regulamentos e procedimentos locais para o teste de amostras colhidas de diferentes origens humanas e animais, amostras ambientais e para produtos destinados ao consumo humano ou animal. As nossas informações não isentam os nossos clientes da sua responsabilidade de verificar a adequação do nosso produto para o fim pretendido.
- Notificar a Mascia Brunelli Spa e as autoridades competentes de quaisquer incidentes graves que ocorram relacionados com o dispositivo de diagnóstico *in vitro* [complaint@masciabrunelli.it](mailto:complaint@masciabrunelli.it).

## 6 - CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E PRAZO DE VALIDADE

Todos os componentes do kit permanecerão estáveis até à data de validade impressa no rótulo, quando armazenados hermeticamente fechados a 2-8°C e as contaminações evitadas durante a sua utilização. Não congelar: os reagentes congelados podem alterar a funcionalidade do teste.

Misturar suavemente os reagentes antes de usar.

**Deterioração dos reagentes: Presença de partículas e turbidez nos controlos; não utilizar. A contaminação bacteriana de reagentes ou amostras pode causar resultados positivos falsos.**

## 7 - RECOLHA DE AMOSTRAS

Soro fresco e limpo. Estável durante 7 dias a 2-8°C ou 3 meses a -20°C. Não utilizar amostras altamente hemolisadas ou lipémicas.





## 8 - EXECUÇÃO DO TESTE

Deixar que os componentes do kit atinjam a temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F) antes de serem testados.

### Teste qualitativo

1. Agitar suavemente a suspensão para homogeneização das partículas de látex.
2. Utilizar sempre controlos positivos e negativos como referências.
3. Colocar **30µL do soro** a ser testado num dos círculos da lâmina. Dispensar **1 gota de cada controlo Positivo e Negativo** em dois círculos adicionais.
4. Adicionar **1 gota ou 40µL de reagente de látex** a cada círculo junto à amostra a ser testada (soro, controlo positivo e negativo).
5. Misturar o conteúdo de cada círculo com uma vareta descartável enquanto se espalha por toda a área delimitada pelo círculo. Utilizar varetas separadas para cada mistura.
6. Agitar a lâmina, manualmente ou com um agitador mecânico de 80 a 100 rpm durante **1 minuto\***.
7. Observar imediatamente a presença ou ausência de aglutinação visível.

\*Amostras com resultados indeterminados podem ser testadas de novo, aumentando o período de rotação para 2 minutos. Tempos de reação mais longos que 2 minutos podem causar resultados falso positivos.

### Teste semiquantitativo

Para cada amostra a ser testada, colocar com uma pipeta 30µL de solução salina (NaCl 9 g/L) em cada um dos 6 círculos de uma lâmina. Ao círculo 1, adicionar 30µL de amostra à solução salina e, utilizando a mesma ponta, misturar a solução salina com a amostra aspirando o líquido para dentro e para fora repetidas e transferir 30µL da mistura para a solução salina no segundo círculo. Continuar com as duplas diluições em série de forma semelhante até ao sexto círculo, e descartar 30µL deste último círculo. As diluições finais da amostra serão: 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64. Testar cada diluição como descrito nos passos 4-7 para o Teste Qualitativo.

## 9 - LEITURA, INTERPRETAÇÃO E CÁLCULO

**Teste qualitativo:** Não reativo: suspensão homogênea, sem aglutinação visível, como apresenta o controlo negativo.

Reativa: qualquer grau de aglutinação visível macroscopicamente.

**Testes semiquantitativos:** o mesmo que o teste qualitativo. O título é definido como a diluição mais elevada onde existe aglutinação. A diluição imediatamente a seguinte deve ser negativa.

## 10 - CONTROLO DE QUALIDADE

Os controlos positivo e negativo são recomendados para monitorizar o desempenho do procedimento, bem como a obtenção de um padrão para comparação para uma melhor interpretação dos resultados. Todos os resultados diferentes do resultado do controlo negativo serão considerados como positivos.

## 11 - VALORES ESPERADOS

Um resultado positivo indica que o nível de anticorpos anti-deoxirribonucleoproteína (DNP) está na gama comumente encontrada no lúpus eritematoso sistémico.

## 12 - CARACTERÍSTICAS

**Desempenho analítico.** Foram testadas amostras de soro com L.E.S. LATEX: 29 tinham LES ativos, 23 tinham LES clinicamente inativos, 8 tinham doenças do tecido conjuntivo e as restantes 95 eram clinicamente normais ou tinham algumas doenças não relacionadas (anemia, mononucleose infecciosa e doenças reumáticas). Os resultados foram comparados com um ensaio padrão de preparação de células LE e um método ANA fluorescente.

	Resultado	L.E.S. TESTE Mascia Brunelli	Célula LE Preparação	F-ANA Teste	Total
LES ativo	Positivo	24 83%	25 86%	24 83%	29
LES inativo	Positivo	4 17,4%	4 17,4%	16 70%	23
Doenças dos tecidos conjuntivos	Positivo	0 0%	1 12,5%	4 50%	8
Doenças clinicamente normais/não relacionadas	Positivo	1 1%	1 1%	6 6%	95

## 13 - LIMITAÇÕES DO MÉTODO

- Soro de pacientes com escleroma, artrite reumatóide, dermatomiosite e uma variedade de doenças do tecido conjuntivo podem provocar aglutinação no teste de L.E.S.
- Como os níveis elevados de anticorpos podem afetar o grau de aglutinação, as amostras positivas devem ser reavaliadas utilizando o procedimento semiquantitativo.
- As amostras de plasma não devem ser utilizadas devido à possibilidade de resultados não específicos.
- A contaminação bacteriana dos controlos e amostras, bem como a congelação e descongelação do reagente L.E.S. TEST, pode levar a resultados falso positivos.
- Fármacos como a hidralazina, isoniazida, procainamida e uma série de fármacos anticonvulsivantes podem provocar uma síndrome de LES.
- Como em todos os testes de diagnóstico, um diagnóstico final não pode depender do resultado de um único teste e deve ser apoiado por outros dados clínicos e laboratoriais.
- Os componentes desta l.v.D. foram sempre testados em conjunto sem compatibilidade com componentes de outros fabricantes. Embora não excluindo a possibilidade destes componentes poderem ser utilizados com componentes da mesma formulação mas produzidos por outras empresas, não há provas experimentais de tal compatibilidade.

## 14 - REFERÊNCIAS

1. Cristian CL, Mendez-Byran R, Larson DL. Proc Exp Biol Med, 1958; 98: 820-823.
2. Friou GJ, Finch SC, Detre KD. J Immunol 1958; 80: 324-329.
3. Hargraves MM, Richmond H, Morton R. Proc Mayo Clin 1948; 23: 25-28
4. Holman HR, Kunkel HG, Science 1957; 126: 263
5. Miescher PA, Strassel R. Vox Sang 1957; 2: 283-287
6. Miescher PA, Rothfield N, Miesher A. Lupus Erythematosus 1966; EL Dubois, Ed., Blakiston Co., New York
7. Rothfield NF, Thythyon JJ, McEwan C, Miescher P. Arth Rheuma 1961; 4: 223-229.
8. Young, D.S. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests (Efeitos das Drogas nos Testes Laboratoriais Clínicos). 4<sup>th</sup> Edição. AAC Press (1995).





TABELA DE SÍMBOLOS APLICÁVEIS

	Dispositivo para Diagnóstico <i>in vitro</i>		Limites de temperaturas		Código do lote (DXXX)		Fabricante		Conservar seco		Identificador único do dispositivo
	Consultar as instruções de utilização		Data do prazo de validade		Número de Catálogo		Não reutilizar		Frágil, manipular com cuidado		Manter afastado da luz solar

HISTÓRICO DE REVISÃO

Versão	Descrição das alterações	Data
Instruções de Utilização (IFU) - Revisão 3	Esquema e conteúdo atualizados	2022/10

Nota: pequenas alterações tipográficas, gramaticais, e de formatação não estão incluídas no histórico de revisões.

