



## ISTRUZIONI PER L'USO

## L.E.S. LATEX

TEST DI AGGLUTINAZIONE AL LATTICE PER LA DETERMINAZIONE DI ANTICORPI ANTI-N-DNA ASSOCIATI AL LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO (L.E.S.)

## 1 – SIGNIFICATO CLINICO E DESTINAZIONE D'USO

Per solo uso diagnostico *in Vitro*

Il lupus eritematoso sistemico (LES) è una malattia infiammatoria cronica di causa sconosciuta che colpisce più organi (articolazioni, pelle, reni, sistema nervoso centrale, cuore, polmoni). Le anomalie immunologiche, in particolare la produzione di numerosi anticorpi antinucleari (ANA), sono un'altra caratteristica importante di questa malattia. Il decorso clinico è caratterizzato da remissioni e ricadute spontanee. Le sue manifestazioni multisistemiche e le complicanze derivanti dall'uso di agenti immunosoppressivi rendono impegnativa la diagnosi e la gestione di questa entità. La rilevazione degli anticorpi ANA con metodi di laboratorio comprende l'immunofluorescenza, il test delle cellule LE e l'agglutinazione di particelle di lattice rivestite. Si ritiene che questi anticorpi anti-DNP causino la formazione delle cellule LE in vitro; questo evento insolito si verifica nel 75-80% dei pazienti a cui viene diagnosticato il LES. Alcuni pazienti con sintomi che suggerivano LES sono risultati negativi al test delle cellule LE. In questi soggetti, gli anticorpi ANA possono essere rilevati con metodi diversi dal test delle cellule LE, come l'agglutinazione al lattice o l'immunofluorescenza.

L.E.S. LATEX è una procedura di agglutinazione rapida, sviluppata per la rilevazione diretta e l'analisi semiquantitativa su vetrino degli anticorpi antidesossiribonucleoproteina (anti-DNP) nel siero umano.

## 2 – PRINCIPIO DEL METODO

Il test viene eseguito analizzando una sospensione di particelle di lattice rivestite di DNP contro sieri sconosciuti. La presenza o l'assenza di un'agglutinazione visibile indica la presenza o l'assenza di anticorpi anti-DNP nei campioni analizzati.

## 3 – MATERIALI FORNITI – CONFEZIONAMENTO

Prodotto	Tipologia	REF	Confezione
L.E.S. LATEX CND: W0102100116 EDMA: 12.10.01.16; RDM: 1555421/R	Test di agglutinazione al lattice	UB80800 (62 test)	1 vial di vetro con reagente al lattice L.E.S., sospensione di particelle di polistirene rivestite con DNP (timo di vitello) in una soluzione tamponata. Contiene Sodio azide < 0,1%. (3,1 mL = 62 test) 1 vial di vetro con Controllo Positivo: siero umano con attività anti-DNP. Contiene Sodio azide < 0,1%. (0,5 mL) 1 vial di vetro con Controllo Negativo: controllo liquido stabilizzato, contiene Sodio azide < 0,1% (0,5 mL) Slide a 6 aree test: cartoncino in plastica idrorepellente (11 pezzi) Bacchette (1x25): bacchette in plastica per miscelazione (3 pezzi) Imballo secondario: scatola di cartone.
L.E.S. CONTROLLI CND: W0102100116 EDMA: 12.50.01.13; RDM: 1555441/R	Controlli per test di agglutinazione al lattice	UD80802 (2x0,5 mL)	1 vial di vetro con Controllo Positivo: siero umano con attività anti-DNP. Contiene Sodio azide < 0,1%. (0,5 mL) 1 vial di vetro con Controllo Negativo: controllo liquido stabilizzato, contiene Sodio azide < 0,1% (0,5 mL) Imballo secondario: scatola di cartone.

## 4 – MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Agitatore meccanico (velocità regolabile a 80-100 rpm). Orologio o cronometro. Pipette. Soluzione salina (9 g/L NaCl, solo per procedura semi-quantitativa).

## 5 – PRECAUZIONI E AVVERTENZE

- L.E.S. LATEX è un kit per l'uso diagnostico *in vitro*, per il solo uso professionale; deve essere utilizzato da personale di laboratorio qualificato e adeguatamente addestrato.
- I componenti di origine umana sono stati analizzati e sono risultati negativi per la presenza di anticorpi anti-HIV 1+2 e anti-HCV, nonché per l'HBsAg. Tuttavia, i controlli devono essere maneggiati con cautela in quanto potenzialmente infettivi.
- La sensibilità del test potrebbe essere ridotta a basse temperature. Portare i reagenti ed i campioni a temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F) prima dell'uso per avere i migliori risultati.
- Non utilizzare dopo la data di scadenza e non usare il test se la confezione è danneggiata. La qualità dei reagenti non può essere garantita oltre la data di scadenza o se il kit è conservato in condizioni non appropriate.
- Seguire le normali precauzioni adottate per i reagenti di laboratorio. Smaltire i rifiuti in conformità alle normative vigenti a livello locale, regionale o nazionale. Per informazioni aggiornate su rischi, pericoli e sicurezza, consultare la scheda di sicurezza del materiale.
- Tutte le operazioni riferite all'esecuzione del test devono essere condotte in accordo alle Buone Pratiche di Laboratorio.
- Tutti i campioni devono essere considerati potenzialmente pericolosi e manipolati nello stesso modo di agenti infettivi.
- Il Certificato di Analisi e la Scheda Dati di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito web: [www.masciabrunelli.it](http://www.masciabrunelli.it).
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.
- Comunicare a Mascia Brunelli Spa e alle Autorità competenti qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo diagnostico in vitro. [complaint@masciabrunelli.it](mailto:complaint@masciabrunelli.it)

## 6 – CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE E DATA DI SCADENZA

Tutti i componenti del kit rimangono stabili fino alla data di scadenza indicata in etichetta quando vengono conservati a +2°C - +8°C, ben chiusi e prevenendo la loro contaminazione durante il loro utilizzo. Non congelare: i reagenti congelati possono modificare la funzionalità del test.

Miscelare delicatamente i reagenti prima dell'uso.

**Deterioramento dei reagenti: presenza di particelle e torbidità nei controlli; non usarli.**

## 7 – RACCOLTA DEL CAMPIONE

Usare sieri freschi e limpidi. I campioni possono essere conservati a +2°C - +8°C per 7 giorni prima di essere utilizzati. Per periodi di tempo superiori il siero deve essere congelato a -20°C e utilizzato al massimo dopo 3 mesi. Sieri ematici, lipemici o contaminati devono essere scartati.

## 8 – PROCEDIMENTO DEL TEST

**Lasciare che i componenti del kit raggiungano la temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F) prima del test.**

## Test Qualitativo

1. Agitare delicatamente la sospensione per omogenizzare le particelle di lattice.





- Utilizzare sempre i controlli positivo e negativo come riferimenti.
- Dispensare **30 µL di siero** da testare in uno dei cerchi sullo slide. Distribuire **1 goccia di ciascun controllo positivo e negativo** in altri due cerchi.
- Aggiungere **1 goccia o 40 µL di Lattice** in ogni cerchio accanto al campione da testare (siero, controllo positivo e negativo).
- Mescolare il contenuto di ciascun cerchio con un agitatore monouso, distribuendolo sull'intera area delimitata dall'anello. Utilizzare un agitatore diverso per ciascuna area.
- Ruotare il vetrino manualmente o con un agitatore meccanico da 80 a 100 giri/minuto per 1 minuto.\*
- Osservare immediatamente la presenza o l'assenza di agglutinazione visibile.

\* I campioni che danno risultati indeterminati possono essere ritestati aumentando il periodo di rotazione a 2 minuti. Tempi di reazione superiori a 2 minuti possono causare risultati falsi positivi.

#### Test Semi-quantitativo

Per ogni campione da testare, aggiungere con una pipetta 30 µL di soluzione salina (NaCl 9 g/L) in ciascuno dei 6 cerchi di uno slide.

Al primo cerchio aggiungere 30 µL di campione alla soluzione salina e, usando lo stesso puntale, mescolare la soluzione salina con il campione mediante ripetute aspirazioni ed espulsioni del liquido e trasferire 30 µL della miscela alla soluzione salina del secondo cerchio.

Continuare con le diluizioni seriali in modo simile fino al sesto cerchio e scartare 30 µL da questo ultimo cerchio. Le diluizioni finali del campione saranno: 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64.

Analizzare ogni diluizione come descritto nei passaggi 4-7 per il test qualitativo.

#### 9 – LETTURA, INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI E CALCOLO

**Metodo qualitativo:** Non reattivo: sospensione omogenea senza agglutinazione visibile, come dimostrato dal controllo negativo.

Reattivo: qualsiasi grado di agglutinazione visibile macroscopicamente.

**Metodo semi-quantitativo:** come il test qualitativo. Il titolo è definito come la diluizione più alta che mostra reattività. La diluizione immediatamente superiore deve essere negativa.

#### 10 – CONTROLLO QUALITÀ

I controlli positivi e negativi sono consigliati per monitorare le prestazioni del test così come per monitorare le prestazioni della procedura e per avere un modello comparativo per una migliore interpretazione dei risultati. Tutti i risultati diversi dal controllo negativo saranno considerati positivi.

#### 11 – VALORI ATTESI

Un risultato positivo indica che il livello di anticorpi anti-desossiribonucleoproteina (DNP) è nell'intervallo comunemente riscontrato nel L.E.S..

#### 12 – CARATTERISTICHE

**Performance Analitica.** I campioni di siero di alcuni pazienti sono stati analizzati con il L.E.S. LATEX: 29 avevano un LES attivo, 23 avevano un LES clinicamente inattivo, 8 avevano malattie del tessuto connettivo e i restanti 95 erano clinicamente normali o avevano alcune malattie non correlate (anemia, mononucleosi infettiva e malattie reumatiche). I risultati sono stati confrontati con un test standard di preparazione delle cellule LE e con un metodo ANA a fluorescenza.

Campioni	Trovato	L.E.S. TEST Mascia Brunelli	LE Cell Preparazione	F-ANA Test	Totale
LES attivo	Positivi	24 83%	25 86%	24 83%	29
LES clinicamente inattivo	Positivi	4 17.4%	4 17.4%	16 70%	23
Malattie del tessuto connettivo	Positivi	0 0%	1 12.5%	4 50%	8
Clinicamente normali/non correlate a malattie	Positivi	1 1%	1 1%	6 6%	95

#### 13 – LIMITI DEL METODO

- Il siero di pazienti affetti da scleroma, artrite reumatoide, dermatomiosite e diverse malattie del tessuto connettivo può provocare agglutinazione aspecifica con L.E.S. Test.
- Poiché livelli elevati di anticorpi possono influenzare il grado di agglutinazione, i campioni positivi dovrebbero essere rianalizzati con il metodo semiquantitativo.
- I campioni di plasma non devono essere utilizzati poiché possono dare risultati non specifici.
- La contaminazione batterica dei controlli e dei campioni, il congelamento/scongelo dei reagenti possono portare a risultati falsi positivi.
- Farmaci come l'idralazina, l'isoniazide, la procainamide e alcuni anticonvulsivanti possono indurre una sindrome da LES.
- Come per tutti i test diagnostici, una diagnosi clinica definitiva non può basarsi sul risultato di un singolo test, ma deve essere confermata da ulteriori dati clinici e di laboratorio.
- I componenti di questo l.v.D. sono sempre stati testati tra loro senza verificarne la compatibilità con componenti prodotti da altri fabbricanti. Pur non escludendo la possibilità che i componenti in questione possano essere usati con componenti di medesima formulazione ma prodotti da altre Aziende, non si ha un'evidenza sperimentale di tale compatibilità.

#### 13 – BIBLIOGRAFIA

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

#### TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti di temperatura		Codice del lotto (DXXX)		Fabbricante		Mantenere asciutto		Identificatore dispositivo
	Consultare le istruzioni per l'uso		Utilizzare entro (anno/mese)		Numero di catalogo		Non riutilizzare		Fragile, maneggiare con cura		Tenere lontano dal calore

#### CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Istruzioni per l'uso (IFU) - Revisione 3	Aggiornamento del contenuto e del layout	2022/10

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

