AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKUSLIDES®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

GEBRAUCHS - ANWEISUNG

***AESKUSLIDES®* ANA HEp-2**

Ref 51.1xx

CE

AESKUSLIDES®
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



eIFU
WWW.AESKU.COM

GEBRAUCHSANWEISUNG

ANA HEp-2

Standard Ref.	Beschreibung	Tests
51.100	**ANA HEp-2** (12 wells)	120
51.101	**ANA HEp-2** (12 wells)	120
51.100.Bulk5	**ANA HEp-2** (12 wells) Bulk Kit	600
51.101.Bulk5	**ANA HEp-2** (12 wells) Bulk Kit	600
51.180	**ANA HEp-2** (18 wells)	180
51.181	**ANA HEp-2** (18 wells)	180
51.180.Bulk5	**ANA HEp-2** (18 wells) Bulk Kit	900
51.181.Bulk5	**ANA HEp-2** (18 wells) Bulk Kit	900

Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG
Mikroforum Ring 2
55234 Wendelsheim
Germany
Phone: +49 6734 9622-0
Fax: +49 6734 9622-2222
Website: www.aesku.com
Mail: info@aesku.com

Table of content

1. ZWECKBESTIMMUNG 1
2. KLINISCHE ANWENDUNG 1
3. TESTPRINZIP 2
4. AUSWERTUNG 2
4.1 Muster der Zellkern Membran 2
4.2 Muster des Zellkernplasmas (Nucleoplasmatische Muster) 3
4.3 Nukleoläre Muster 5
4.4 Muster des Spindelapparates 5
4.5 Zytoplasmatische Muster 6
4.6 Negativ 7
4.7 Unbestimmbar 7
4.8 Annex 8
5. SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE 9
a. Tabelle 1: Kombinierter Datensatz der Konfidenzintervalle 9
b. Tabelle 2: Kombinierter Datensatz Mustervergleich Vergleichsprodukt vs Aesku 9
5.1 Reproduzierbarkeit und Genauigkeit 9
6. DATENAUSWERTUNGSBOGEN 10
7. INHALT DER KITS 11
8. INHALT DER STANDARDREAGENZIEN 13
8.1 Standardreagenzien 13
8.2 Zusätzlich erforderliches Material 14
9. LAGERUNG UND HALTBARKEIT 14
10. HINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN 15
c. Gesundheitsrisiko 15
d. Allgemeine Hinweise 15
11. PROBENENTNAHME, VORBEREITUNG UND LAGERUNG 16
12. TESTDURCHFÜHRUNG 16
e. Vorbereitung 16
f. Testdurchführung 17
g. Arbeitsablauf 18
13. FEHLERBEHEBUNG 19
14. REGULATORISCHE SYMBOLE 20

ANA HEp-2

1. ZWECKBESTIMMUNG

***AESKUSLIDES*® ANA HEp-2** ist ein indirekter Immunfluoreszenz-Test zur Bestimmung von nukleären und/ oder cytoplasmatischen Autoantikörpern in humanem Serum.

Der Test dient der Differentialdiagnose von systemisch rheumatischen Erkrankungen wie dem systemischen Lupus erythematodes (SLE), Mischkollagenosen (mixed connective tissue diseases, MCTD), Sklerodermie, Sjögren Syndrom, Polymyositis und Dermatomyositis.

2. KLINISCHE ANWENDUNG

Anti-nukleäre Antkörper (ANA) sind gegen eine Vielzahl nukleärer und cytoplasmatischer Antigene gerichtet und treten mit hoher Frequenz bei systemisch rheumatischen Erkrankungen auf. Ihre Bestimmung ist daher für die Differentialdiagnose ein bedeutendes Hilfsmittel. So sind beispielsweise SS-A (Ro)- und SS-B (La)-Antikörper mit SLE und dem Sjögren-Syndrom (SS) assoziiert, anti-dsDNA Antikörper und anti-Sm Antikörper, Antikörper gegen Histone und Antikörper gegen Nukleosomen mit dem SLE (systemischer Lupus erythematodes). Anti-RNP-Antikörper sind mit Mischkollagenosen und SLE assoziiert, anti-Scl-70 Antikörper mit Sklerodermie (progressive systemische Sklerose, PSS), anti-Jo-1 Antikörper mit Polymyositis und Dermatomyositis und Antikörper gegen Centromer-Proteine mit dem CREST-Syndrom. Ausführliche Informationen finden Sie im Abschnitt 4 unten.

Für die Detektion von ANAs war der indirekte Immunfluoreszenz-Test (IFT) an eukaryotischen Zellen wie HeLa und Hep2 Zellen bisher die Methode der Wahl. Der IFT ist zwar eine sensitive Methode, die Testung einer großen Anzahl an Seren ist jedoch mühsam. Zudem kann das Testsystem aufgrund der Interpretation der Testergebnisse durch das Laborpersonal und der Unterschiede der Fluoereszenzmikroskope gewissen Fehlern unterliegen. Die Spezifität der einzelnen ANAs kann durch Testung mit spezifischen ELISAs, die die entsprechenden spezifischen Antigene verwenden, bestimmt werden. Dies erlaubt eine einfache und zuverlässigere Differenzierung der ANAs nach ihrer Spezifität.

Antigen: HEp-2 Zellen

Kreuzreaktionen: nicht bekannt

Der Test beruht auf dem Prinzip der indirekten Immunfluoreszenz: Objektträger sind mit Gewebeschnitten oder Zellen (HEp2 zur Bestimmung von ANA, Granulozyten zur Bestimmung von ANCA oder Crithidia luciliae zur Bestimmung von anti-nDNA Antikörpern) beschichtet. Enthält ein Patientenserum Antikörper gegen Bestandteile der Gewebe oder Zellen, so binden diese im ersten Inkubationsschritt an das entsprechende Substrat auf dem Objektträger. Ungebundene Serumbestandteile werden in einem Waschschritt entfernt. Die gebundenen Patientenantikörper werden in einem zweiten Inkubationsschritt durch Fluorescein markierte Anti-human Immunglobuline nachgewiesen, welche an die gebundenen Patientenantikörper binden und diese durch ihren Fluoreszenz-Farbstoff sichtbar machen. Es resultiert eine spezifische grüne Fluoreszenz der Antigen-Antikörper-Komplexe, die unter einem Immunfluoreszenz-Mikroskop sichtbar werden.

3. TESTPRINZIP

Ausführliche Anweisungen sind in der Standardanleitung, Abschnitt 12, unter „Testdurchführung" zu finden. Bei den ANA-HEp-2-Kits sind folgende Details zu beachten:

- Dauer der Gegenfärbung: 30 bis 90 Sekunden
- Empfohlener Screening-Titer:
  - 1:80 für Proben von Erwachsenen
  - 1:40 für pädiatrische Proben.

4. AUSWERTUNG

HEp-2 Zellen sind humane Epithelzellen, die aus einem Lanynx Karzinom Gewebe eines Patienten kultiviert wurden. Das Substrat bietet ein homogenes Zellwachstum ohne zelluläre Verbindungen. Zur Beurteilung von Proben sind Zellen im Mitosestadium von großer Wichtigkeit, da hiermit nukleäre Muster genauer bestimmt werden können.

Der entsprechende Endtiter ist jene Verdünnung eines Patientenserums, bei der dieses gerade noch eine positive Fluoreszenz zeigt.

Die Beurteilung sollte immer mit einer Positiv- und einer Negativ-Kontrolle durchgeführt werden. Schwache Fluoreszenzen der Zellkerne bei Titern von 1:40 (Kinder) und 1:80 (Erwachsene) oder Unklarheit in Bezug auf die klinischen Ergebnisse sollten anhand der Kontrollen überprüft werden.

In einem solchen Fall sollten die Patientenproben ca. alle 6 Wochen eingeholt und durch ein entsprechend gleiches Prozedere gemessen werden. [1]

4.1 Muster der Zellkern Membran

4.1.1 Leichte Anfärbung der Kernmembran

Leichte homogene Ring-ähnliche Fluoreszenz der Zellkernmembran in Interphase Zellen. Einige Proben mit starken Antikörper erwecken den Eindruck einer Anfärbung des gesamten Zellkerns. Ein ähnliches Muster ist bei Zellen in der Telophase zu beobachten. Bei Metaphase Zellen zeigt sich diese Fluoreszenz jedoch diffus im Zytoplasma und das chromosomale Material bleibt unangefärbt.

[1] Wiik A. Scand J Rheumatol 2005; 34:260-8.

4.1.2 Unterbrochene Zellkernmembran Muster

Eine diskontinuierliche unterbrochene Fluoreszenz entlang der Zellkernmembran. Bei Fokussierung durch den Zellkern hindurch kann die unterbrochene Anfärbung auf der Oberfläche des vollständigen Zellkerns beobachtet werden.

Ein ähnliches Muster zeigt sich in der Telophase. In Metaphase Zellen ist die Fluoreszenz diffus über das Zytoplasma verteilt. Einige Proben mit starken Antikörper erwecken den Eindruck einer Anfärbung des gesamten Zellkerns.

4.2 Muster des Zellkernplasmas (Nucleoplasmatische Muster)

4.2.1 Homogenes Zellkern Muster

Eine einheitliche diffuse Fluoreszenz über das gesamte Nukleoplasma, die manchmal in der Zellkern Peripherie hervorgehoben sein kann, kann mit verschiedenen Antikörpern in Zusammenhang gebracht werden, die meist gegen Komponenten der Chromosomen gerichtet sind (DNA, Histone etc.). In manchen Fällen zeigt sich eine intensivere Anfärbung des inneren Bereichs der Zellkerns (nukleärer Saum).

Einige Proben können zusätzlich eine periphere Anfärbung der Nukleoli zeigen. Die Anfärbung der Nukleoli ist variable. In der Metaphase lässt sich eine homogene Anfärbung oder eine Anfärbung des Chromatins beobachten.

Es lassen sich folgende leicht unterschiedliche Muster unterscheiden:

- Homogen nukleär mit homogener Anfärbung der Nukleoli
- Homogen nukleär ohne Anfärbung der Nukleoli

4.2.2 Gesprenkelte Anfärbung des Zellkerns

Es finden sich eine Reihe von gesprenkelten Mustern des Zellkerns, die schwierig zu unterscheiden sind. Mit angemessener Sorgfalt lassen sich sieben Muster unterscheiden. Metaphase-Chromosomen bleiben bei sechs dieser Muster negativ und zeigen eine positive Anfärbung beim sog. Centromer Muster.

4.2.3 Groß gesprenkeltes nukleäres Muster (Nukleäre Matrix) (SC35)

Verschiedene große Sprenkelungen über das Nukleoplasma verteilt, früher als Anfärbung der nukleären Matrix bezeichnet. Entsteht vermutlich durch Anfärbung der Interchromatin- Granula. Die Nukleoli bleiben negativ. Das Metaphase und Telophase Zytoplasma zeigt eine diffus angeordnete Sprenkelung mit negativem Chromatin.

4.2.4 Grob gesprenkeltes nukleäres Muster

Dicht verteilte Sprenkelung unterschiedlicher Größe, üblicherweise mit großer Sprenkelungen einhergehend, die über das Nukleoplasma von Interphase Zellen verteilt ist. Die Nukleoli bleiben negativ. Das Zytoplasma von Zellen der Metaphase und Telophase zeigt eine Sprenkelung, die um das Chromatin herum verdichtet ist, das Chromatin selbst bleibt negativ.

Dieses Muster ist meist mit einer Anfärbung der Splicosomen assoziiert.

4.2.5 Feine Sprenkelung des Zellkerns

Eine fein gesprenkelte Anfärbung in gleichmäßiger Verteilung, manchmal sehr dicht, so dass das Muster annähernd homogen erscheint. Die Nukleoli können positiv sein (insbesondere mit anti-SS-B/La Antikörpern), oder aber auch negativ bleiben. Das Zytoplasma von Metaphase Zellen zeigt eine feine Sprenkelung mit einer Anhäufung rund um das Chromatin, welches selbst negativ bleibt. Die Nukleoli von Zellen in der Telophase können positiv sein, sie sind hier manchmal stärker angefärbt als bei Zellen in der Interphase.

4.2.6 Körniges Scl 70 ähnliches Muster

Eine gleichmäßige feine körnige Sprenkelung des Nukleoplasmas und der chromosomalen Bereiche bei Metaphase und Telophase Zellen, oftmals mit hervorgehobenen positiven Nukleoli. Die Anfärbung kann bei geringen Vergrößerungen homogen erscheinen. Dieses Muster wird nicht allein bei anti-Scl 70 positiven Seren beobachtet.

4.2.7 Pleomorph gesprenkelte Zellkerne

Die Kerne von Zellen, die sich in der Proliferation befinden (S-Phase) zeigen eine Vielzahl unterschiedlicher Sprenkelungen des Nukleoplasmas, von fein bis zu sehr grob, unregelmäßiger Sprenkel (je nach Zellpräparation kann dies 10-50 % der Zellen betreffen): In manchen Zellen sind auch die Nukleoli angefärbt. Zellen in der Ruhephase (G-Phase) und in der Metaphase bleiben negativ. Dieses Muster wird auch als anti-PCNA Muster bezeichnet (anti-proliferating cell nuclear antigen) und tritt üblicherweise in Assoziation mit anderen Mustern auf.

4.2.8 Centromer Muster

Ziemlich einheitliche separate Sprenkel, die über den gesamten Zellkern verteilt sind (40-60 Sprenkel pro Zellkern). Telophase und Metaphase Zellen zeigen diese Sprenkel immer im kondensierten Chromosomenmaterial. Dieses Muster wird von Antikörpern gegen die Kinetochoren der Chromosomen hervorgerufen. Die Antikörper können gegen mehrere Centromer Proteine gerichtet sein (CENP-A, B, C, D, E).

4.2.9 Multiple nukleäre Dots (NSp-1)

5-10 Punkte (Dots) pro Zellkern. Hier sind nukleäre Unterstrukturen angefärbt, welche oft als PML Körperchen bezeichnet werden (aufgrund ihres ausgeprägten Auftretens bei der Promyelocyten Leukämie). Chromosomen der Metaphase und der Telophase bleiben negativ.

4.2.10 Coiled nukleäre Dots (einige nukleäre Dots)

2-6 Dots pro Zellkern, die im Nukleoplasma lokalisiert sind. Sie stehen oft in enger Nachbarschaft zu den Nukleoli. Keine Anfärbung des Metaphase- oder Telophase- Chromatins.

4.3 Nukleoläre Muster

4.3.1 Homogenes nukleoläres Muster

Fluoreszenz des gesamten Nukleolus ohne Anfärbung der Chromosomen oder der Nukleolär organisierenden Region (NOR) in sich teilenden Zellen.

4.3.2 Klumpenartiges nukleoläres Muster

Helle zusammengedrängte größere Granula, die zur Ausstattung der fibrillären Zentren der Nucleoli gehören. In mitotischen Zellen scheint die Metaphase und Telophase Platte eine irreguläre Fächer-ähnliche Fluoreszenz zu haben.

4.3.3 Unterbrochenes nukleoläres Muster

Kleine separate Körner, die hauptsächlich in den Zentren der Nukleoli zu finden sind. In Metaphase Zellen können 2-5 diskrete Sprenkel innerhalb des Chromatin-Körpers gefunden werden, der zu der nukleolär organisierenden Region gehört.

4.4 Muster des Spindelapparates

4.4.1 Centriolen (Centrosom) Muster

In den Metaphase Spindeln sind diskrete Fluoreszenz- Punkte an jedem der Spindel-Pole zu beobachten, die senkrecht zueinander stehen.

In Interphase Zellen sind ein oder zwei helle Punkte im Zytoplasma zu erkennen, diese liegen nahe beim Zellkern.

4.4.2 Muster der Spindelpole (NuMA)

Fluoreszenz der Spindelpol-Bereiche in Metaphase Zellen (dreieckiges oder Bananen-förmiges Muster). Die Spindelfasern sind negativ mit einem mehr linearen Muster in Telophase Zellen. Eine feine Sprenkelung mit negativen Nukleoli wird meist in ruhenden und Telophase Zellen beobachtet, diese können aber auch negativ sein.

4.4.3 Muster der Spindel-Fasern

Eine Anfärbung des gesamten Spindelfaser-Apparates vom Pol zu den Chromatin-Scheiben in Metaphase Zellen. Keine Anfärbung von Chromosomen in ruhenden oder sich teilenden Zellen.

4.4.4 Midbody Muster (MSA-2)

In Prophase- und Metaphase-Zellen zeigt sich die Fluoreszenz als feine Streifen in der chromosomalen Region, die senkrecht zur Flanke der Metaphase-Platte stehen. In der Telophase ist die Fluoreszenz auf die Teilungsfurche beschränkt und einem schmalen verbindenden Mittelkörper (Midbody) zwischen den Zellen, welche die Zellteilung beenden. Zellen in der S und G2 Phase zeigen diskrete oder uneinheitliche Sprenkel. Das Muster wird von Antikörpern gegen das MSA-2 Antigen (Mitotic Spindle Antigen 2) hervorgerufen.

4.4.5 C-F Muster

Die charakteristischste Eigenschaft findet man in Metaphase Zellen, in denen sich das Muster aus zwei Gruppen dichter großer Körnchen zusammensetzt, die die chromosomale Metaphase-Platte wie einen Griff umgeben, dies sieht oft einem Reissverschluss ähnlich. Diese Körnchen sind Teil der Centromere. Das umgebende Cytoplasma ist diffus angefärbt. In Zellen in der Prophase zeigt sich eine dichte unterbrochene Anhäufung an den Chromosomen. Eine sehr feine dichte nukleäre Sprenkelung kann in einigen Interphase Zellen zu sehen sein. Das Muster wird von Antikörpern gegen das MSA-3 Antigen (Mitotic Spindle Antigen 3) hervorgerufen, das identisch mit dem Centromer Protein F (CENP-F) sein kann.

4.5 Zytoplasmatische Muster

4.5.1 Feine Sprenkelung des Zytoplasmas

Feine Körnchen, die über das gesamte Zytoplasma verteilt sind. Sie erscheinen oft klarer in der Peripherie der Zelle und erzeugen hier ein Sternennebel ähnliches Bild. Keine Anfärbung der Zellkerne oder Nukleoli. Dieses Muster ist charakteristisch für Antikörper, die gegen tRNA Synthetasen gerichtet sind. Die Chromosomen in der Metaphase sind negativ.

4.5.2 Diffuses cytoplasmatisches Muster

Eine sehr feine, dichte, granuläre oder homogene Fluoreszenz oder ein wolkenähnliches Muster, das Teile des Cytoplasmas einnimmt. Keine Anfärbung der Zellkerne, die Nukleoli können jedoch homogen angefärbt werden, wenn Antikörper gegen ribosomale RNA Proteine gerichtet sind, deren Vorläufer in den Nukleoli lokalisiert sind. Das chromosomale Material in Metaphase Zellen ist negativ.

4.5.3 Mitochondriale Muster

Größere unregelmäßige Körnchen, die in einem retikulären Netzwerk vom Zellkern in das Zytoplasma reichen. Das Antigenkluster M2, das hauptsächlich erkannt wird setzt sich aus 4 mitochondrialen Proteinen der inneren Mitochondirenmembran zusammen. Zellkerne und Nukleoli sind negativ, Seren mit hohen Antikörper Titern können jedoch den Eindruck einer Sprenkelung des Zellkerns erzeugen.

4.5.4 Lysosomale Muster

Unregelmäßige Fluoreszenz zwischen den großen Organellen, verteilt über das Cytoplasma. Diese kann hervorgerufen werden durch Antikörper gegen kleine Organellen wie Lysosomen oder Peroxisomen. Der Zellkern wird nicht angefärbt, aber diffuse Anfärbung des Zytoplasmas von sich teilenden Zellen.

4.5.5 Golgi-Muster

Anfärbung polarer Organellen nahe des Zellkerns, unregelmäßig große Granula. Der Zellkern und die Nukleoli sind negativ. Diffuse Anfärbung des Zytoplasmas sich teilender Zellen, die sich im Bereich des chromosomalen Materials hervorhebt.

4.5.6 Aktin Muster

Anfärbung von Zellspannungs-Fasern, die in einer einfachen Brennebene direkt unter der Plasma Membran liegen. Zellkerne, Nukleoli und Metaphase-Chromosomen sind negativ. Aktin-Stränge nahe der Plasmamembran spannen sich über die gesamte Zelllänge. Dendritische Ausbreitung auf der Zellmembran kann ebenso beobachtet werden.

4.5.7 Vimentin Muster

Feine Fasern in reichlicher Menge breiten sich über das gesamte Zytoplasma und erzeugen in der Anfärbung ein strahlenförmiges Netzwerk. Ebenso können aggregierte Faser-Bündel um den Zellkern herum angefärbt sein, diese erscheinen spiralförmig. Zellkerne und Nukleoli sind negativ.

4.6 Negativ

4.6.1 Negative (Beispiel 1)

Das Zytoplasma oder die Zellkerne zeigen nahezu keine Grünfluoreszenz. Einzelne, oftmals unregelmäßige grüne Spots, die im Gesichtsfeld zu beobachten sind, können Aggregate des Konjugates darstellen. Die Zellstrukturen können bräunlich erscheinen (z.B. die Nukleoli), insbesondere bei alten Präparaten oder bei Präparaten, die mit anti-Ausbleichenden Reagenzien aufbewahrt wurden. Zelltrümmer können ebenso grün floureszierende Artefakte hervorrufen.

4.6.2 Negative (Beispiel 2)

Es zeigt sich eine sehr matte grünliche Fluoreszenz der Zellkerne und/oder des Zytoplasmas, deren Intensität unter der einer schwach positiven Probe liegt. Die Beurteilung dieser Probe kann am besten erfolgen, indem beim täglichen Testprozedere stets eine schwach ANA positive Probe, eine ANA negative Probe sowie und eine stark ANA positive Probe als Kontrolle mitgeführt wird.

4.7 Unbestimmbar

Jegliches andere Muster, das mit subzellulären Organellen oder Strukturen in Beziehung steht, welche noch nicht in die Klassifizierungs-Taxonomie integriert sind.

4.8 Annex

Laboratorien, die für die ANA Diagnostik Kryostat-Gewebeschnitte z.B. Leber oder Niere von Nagetieren verwenden, können folgende Fluoreszenz-Muster nicht erfassen: pleomorph gesprenkelte Zellkerne,

Zentromer-Muster, multiple nukleäre Dots, coiled nukleäre Dots (coiled body pattern), einige nukleoläre Muster und die meisten cytoplasmatischen Muster. Muster des Spindelapparates werden ebenso nicht erkannt. Die mitochondrialen Muster können auf den meisten Geweben als grobgesprenkelte Muster erkannt werden, die früher auf tierischen Nierengewebeschnitten detektiert wurden.

Die leichte Fluoreszenz der Kernmembran zeigt sich oftmals sehr klar auf Ratten-Leberschnitten. Der Grenztiter für positive ANA auf HEp-2 Zellen liegt gewöhnlich über 1:80, bei der Verwendung von Gewebeschnitten liegt er gewöhnlich darunter.

Oftmals zeigt ein Serum mehrere verschiedene Fluoreszenz-Muster, z.B. multiple nukleäre Dots zusammen mit mitochondrialem Muster (beide sind charakteristisch für die primäre biliäre Cholangitis) und das pleomorph gesprenkelte nukleäre Muster zusammen mit homogener Zellkern-Anfärbung, grober oder feiner Sprenkelung (die charakteristisch für den systemischen Lupus erythematodes sind). Ebenso tritt das Zentromer-Muster oftmals zusammen mit dem mitochondrialen Muster auf.

Es soll darauf hingewiesen werden, dass einige Labore und Teste FITC-Konjugate verwenden, die gegen alle Immunglobulin-Klassen gerichtet sind. Das hier vorliegende Glossar basiert auf den Ergebnissen für IgG spezifische Konjugate.

5. SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE

Einhundertachtunddreißig gefrorene Proben wurden auf zwei Reagenzchargen eines anderen Unternehmens und auf zwei ***AESKUSLIDES***®-Chargen getestet. Die 118 klinischen Proben waren mehrere Jahre gelagert worden und stellten Patienten dar, die hinsichtlich einer rheumatischen Erkrankung ausgewertet wurden. Zusätzlich waren zwanzig Proben von Gesundheitsmessen enthalten. Die Proben von Gesundheitsmessen stellten eine Bevölkerung ohne bekannte klinische Symptome einer rheumatischen Erkrankung dar. Der Vergleich von zwei Kits sollte die Vergleichbarkeit zwischen den ANA HEp-2-Systemen von zwei unabhängigen Unternehmen einschließlich Musterkonsistenz zeigen.

a. Tabelle 1: Kombinierter Datensatz der Konfidenzintervalle

		Vergleichsprodukt		
		Positiv	**Negativ**	**Gesamt**
***AESKUSLIDES®* ANA HEp-2**	**Positiv**	116	0	116
	Negativ	0	22	22
	Gesamt	116	22	138

Positive % Übereinstimmung = 116/116 = 100 % (95 % CI: 96,8 – 100 %)
Negative % Übereinstimmung = 22/22 = 100 % (95 % CI: 85,1 – 100 %)

b. Tabelle 2: Kombinierter Datensatz Mustervergleich Vergleichsprodukt vs Aesku

Muster	n	Vergleichsprodukt	*AESKUSLIDES®*
Homogen	32	32	32
Gefleckt	82	82	82
Nucleolär	20	20	20
Zentromer	6	6	6
Peripher	3	3	3
Kernmembran	1	1	1

N =144[2]

Die klinischen Proben stellten das gesamte Spektrum der Autoimmunerkrankungen dar, einschließlich SLE, Sklerodermie -CREST, Sjögren, MCTD, Antiphospholipid-Syndrom, rheumatoide Arthritis, Polymyositis/Dermatomyositis, durch Medikamente verursachte SLE, etc.

5.1 Reproduzierbarkeit und Genauigkeit

Es wurden drei verschiedene ***AESKUSLIDES***®-Chargen mit 15 Serumproben getestet, welche die gesamte Musterreihe abdecken. Diese Proben wurden von 1:40 bis 1:10240 verdünnt. Jede Verdünnung wurde von zwei unabhängigen Lesegeräten bei allen drei CHARGEN analysiert. Annahmekriterium war eine Abweichung der Fluoreszenzintensität von +/- 1. Die Annahmekriterien wurden für alle Proben, alle Verdünnungen, alle Chargen und alle unabhängigen Lesegeräte erfüllt. Genauere Daten auf Anfrage.

[2] Die Differenz zwischen N=138 aus Tabelle 1 und N=144 aus Tabelle 2 geht aus der Tatsache hervor, dass einige Proben überhaupt kein Muster (z.B. Probe Nr. 5) und einige Proben zwei Muster aufweisen (z.B. Probe Nr. 2). Die Tabelle 2 bezieht sich nur auf die Anzahl der Muster.

6. DATENAUSWERTUNGSBOGEN

ANA HEp-2

Datum:	Charge:
Objektträger-Nr.:	Durchführender:

Kavität Nr.	ID	Verdünnungsfaktor	F.I.	Chromosomen (Mitose)	Kernplasma	Nukleolus	Zytoplasma	Autoantikörper	Anmerkungen
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									
14									
15									
16									
17									
18									

7. INHALT DER KITS

		OBJEKTTRÄGER				KONJUGAT			POSITIVKONTROLLE		
Kit-Ref.	**Beschreibung des Kits**	**Ref.**	**Kavitäten**	**Beschichtet mit**	**Anzahl**	**Ref.**	**Beschreibung**	**Menge**	**Ref.**	**Beschreibung**	**Menge**
51.100	**ANA HEp-2** (12 wells)	**S51.100**	12	ANA-Hep-2 Cells	10	**C51.100**	IgG Blauer Verschluss: leicht blau gefärbte Lösung. Inhalt: BSA, Fluoreszein (FITC)-markierter Anti-Human-Antikörper	1x 4,8 ml	**PC51.100**	ANA-Musterkontrolle (homogen) Roter Verschluss: Farblose Lösung. Inhalt: Humanserum (verdünnt), Natriumazid < 0,1 % (Konservierungsstoff)	1x 0,5 ml
51.101	**ANA HEp-2** (12 wells)					**C51.101**	IgG Blauer Verschluss: leicht blau gefärbte Lösung. Inhalt: BSA, Fluoreszein (FITC)-markierter Anti-Human-Antikörper (H+L)		**PC51.101**	ANA-Musterkontrolle (homogen) Roter Verschluss: Farblose Lösung. Inhalt: Humanserum (verdünnt), Natriumazid < 0,1 % (Konservierungsstoff)	1x 0,5 ml
51.100. Bulk5	**ANA HEp-2** (12 wells) **Bulk kit**				50	**C51.100. Bulk**	IgG Blauer Verschluss: leicht blau gefärbte Lösung. Inhalt: BSA, Fluoreszein (FITC)-markierter Anti-Human-Antikörper	2x 10 ml	**PC51.100**	ANA-Musterkontrolle (homogen) Roter Verschluss: Farblose Lösung. Inhalt: Humanserum (verdünnt), Natriumazid < 0,1 % (Konservierungsstoff)	1x 0,5 ml
51.101. Bulk5	**ANA HEp-2** (12 wells) **Bulk kit**					**C51.101. Bulk**	IgG Blauer Verschluss: leicht blau gefärbte Lösung. Inhalt: BSA, Fluoreszein (FITC)-markierter Anti-Human-Antikörper (H+L)		**PC51.101**	ANA-Musterkontrolle (homogen) Roter Verschluss: Farblose Lösung. Inhalt: Humanserum (verdünnt), Natriumazid < 0,1 % (Konservierungsstoff)	1x 0,5 ml

		OBJEKTTRÄGER				KONJUGAT			POSITIVKONTROLLE		
Kit-Ref.	**Beschreibung des Kits**	**Ref.**	**Kavitäten**	**Beschichtet mit**	**Anzahl**	**Ref.**	**Beschreibung**	**Menge**	**Ref.**	**Beschreibung**	**Menge**
51.180	**ANA HEp-2** (18 wells)	**S51.180**	18	ANA-HEp-2 Cells	10	**C51.100. Bulk**	**IgG** Blauer Verschluss: leicht blau gefärbte Lösung. Inhalt: BSA, Fluoreszein (FITC)-markierter Anti-Human-Antikörper	1x 10 ml	**PC51.100**	ANA-Musterkontrolle (homogen) Roter Verschluss: Farblose Lösung. Inhalt: Humanserum (verdünnt), Natriumazid < 0,1 % (Konservierungsstoff)	1x 0,5 ml
51.181	**ANA HEp-2** (18 wells)					**C51.101. Bulk**	**IgG** Blauer Verschluss: leicht blau gefärbte Lösung. Inhalt: BSA, Fluoreszein (FITC)-markierter Anti-Human-Antikörper (H+L)		**PC51.101**	ANA-Musterkontrolle (homogen) Roter Verschluss: Farblose Lösung. Inhalt: Humanserum (verdünnt), Natriumazid < 0,1 % (Konservierungsstoff)	1x 0,5 ml
51.180. Bulk5	**ANA HEp-2** (18 wells) **Bulk kit**				50	**C51.100. Bulk**	**IgG** Blauer Verschluss: leicht blau gefärbte Lösung. Inhalt: BSA, Fluoreszein (FITC)-markierter Anti-Human-Antikörper	3x 10 ml	**PC51.100**	ANA-Musterkontrolle (homogen) Roter Verschluss: Farblose Lösung. Inhalt: Humanserum (verdünnt), Natriumazid < 0,1 % (Konservierungsstoff)	1x 0,5 ml
51.181. Bulk5	**ANA HEp-2** (18 wells) **Bulk kit**					**C51.101. Bulk**	**IgG** Blauer Verschluss: leicht blau gefärbte Lösung. Inhalt: BSA, Fluoreszein (FITC)-markierter Anti-Human-Antikörper (H+L)		**PC51.101**	ANA-Musterkontrolle (homogen) Roter Verschluss: Farblose Lösung. Inhalt: Humanserum (verdünnt), Natriumazid < 0,1 % (Konservierungsstoff)	1x 0,5 ml

HINWEIS: Der Inhalt der übrigen Bestandteile der Kits, d.h. der gemeinsamen Reagenzien (Negativ-Kontrolle, Mounting Medium usw.), wird weiter unten in Abschnitt 8 INHALT DER STANDARDREAGENZIEN beschrieben.

8. INHALT DER STANDARDREAGENZIEN

8.1 Standardreagenzien

Kit Ref.	Anzahl	Ref.	Reagenz	Menge / Volumen	Beschreibung	Gebrauchs-fertig
Alle Kits	1x	**NCIFA**	Negativkontrolle	0,5 ml	Grüner Verschluss: Farblose Lösung. Inhalt: Humanserum (verdünnt), Natriumazid < 0,1 % (Konservierungsstoff)	JA
Alle Kits	1x	*** EBIFA**	Evans-Blue Färbelösung 0,2 %	1,5 ml	Weißer Verschluss: Blaue Lösung. Inhalt: PBS, Evans-Blue. Das 0,2 %ige Evans-Blue 1:3000 in 1 x WBIFA verdünnen	NEIN
51.100; 51.101; 51.180; 51.181	1x	**MMIFA**	Mounting Medium	8 ml	Für die Anwendung mit dem HELMED® oder HELIOS® validiert; Weißer Verschluss: Farblose Lösung. Inhalt: PBS, Glycerin.	JA
51.100.Bulk5; 51.101.Bulk5; 51.180.Bulk5; 51.181.Bulk5	3x	**MMIFA.BULK**	Mounting Medium	12 ml		
51.100; 51.101; 51.180; 51.181	1x	**WBIFA**	Waschpuffer (10x)	100 ml	Weißer Verschluss: Farblose Lösung. Den konzentrierten Puffer 1:10 in destilliertem Wasser (z. B. 100 ml + 900 ml) verdünnen. Inhalt: PBS, Natriumazid (Konservierungsstoff).	NEIN
51.100.Bulk5; 51.101.Bulk5; 51.180.Bulk5; 51.181.Bulk5	3x					
51.100; 51.101	1x	**SBIFA**	Probenverdünnungs-puffer (1x)	70 ml	Weißer Verschluss: Farblose Lösung. zur Verdünnung der Patientenseren Inhalt: BSA, PBS, Natriumazid (Konservierungsstoff).	JA
51.100.Bulk5; 51.101.Bulk5	3x					
51.180; 51.181	1x			100 ml		
51.180.Bulk5; 51.181.Bulk5	3x					

Mengenangabe je Kit. (*) müssen separat geordert werden

8.2 Zusätzlich erforderliches Material

1. Destilliertes Wasser
2. Teströhrchen zur Probenverdünnung
3. Messkolben
4. Volumetrische Pipette
5. Wecker
6. Fluoreszenzmikroskop mit FITC-System (Anregungsfilter: 490 nm, Barrierefilter: 510 nm)
7. Inkubationswanne
8. Färbewanne
9. Pipettenspitzen
10. Deckgläser (24 x 60 mm)
11. Spritzflasche

Sollten die Produktinformationen, einschließlich der Produktkennzeichnung, beschädigt oder falsch sein, so wenden Sie sich bitte an den Hersteller bzw. Lieferant des Testkits.

9. LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Lagern Sie alle Reagenzien bei 2-8 °C / 35,6-46,4 °F. Starke Lichteinwirkung ist zu vermeiden. Das Verfallsdatum der einzelnen Komponenten ist auf den jeweiligen Etiketten angegeben. Verwenden Sie die Reagenzien nicht nach dem Verfallsdatum.

Lagern Sie alle Reagenzien und die Objektträger bei 2-8 °C / 35,6-46,4 °F in ihren Originalbehältnissen. Rekonstituierte Lösungen sind nach der Zubereitung mindestens 1 Woche bei 2-8 °C / 35,6-46,4 °F haltbar.

Die Reagenzien und Objektträger dürfen nur bis zu dem auf den einzelnen Komponenten angegebenen Verfallsdatum verwendet werden.

10. HINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

c. Gesundheitsrisiko

DIESES PRODUKT DARF AUSSCHLIESSLICH ZUR IN VITRO DIAGNOSTIK VERWENDET WERDEN. Die Anwendung muss durch Personal erfolgen, das speziell in der Verwendung von in vitro-Diagnostika unterrichtet und ausgebildet wurde. Die in diesem Produkt enthaltenen Reagenzien sind bei vorschriftmäßigem Gebrauch weder als toxisch noch als gesundheitsgefährlich einzustufen, dennoch sollte zur Gewährleistung der maximalen Sicherheit des Anwenders folgendes eingehalten werden:

Empfehlungen und Vorsichtsmaßnahmen

Dieses Kit enthält potenziell gefährliche Komponenten. Auch wenn die Kitreagenzien nicht als reizend für Augen und Haut eingestuft sind, empfiehlt es sich, den Kontakt mit den Augen und der Haut zu vermeiden und Einweghandschuhe zu tragen.

Die in diesem Produkt enthaltenen Reagenzien humanen Ursprungs (Kontrollen usw.) erwiesen sich bei der Prüfung auf Hepatitis B Oberflächen-Antigen (HbsAg), Hepatitis C und HIV als negativ. Kein Test kann jedoch Viren in derartigem Material mit Sicherheit ausschließen. Daher sind die Kontrollen des Kits sowie Patientenproben als potenziell infektiös einzustufen und gemäß nationalen Vorschriften zu handhaben. Der Testkit enthält Material tierischen Ursprungs (BSA, Immunglobuline) wie in Kap. „Kitbestandteile" aufgeführt, befolgen Sie bei Verwendung die nationale Rechtslage.

d. Allgemeine Hinweise

1. Nicht mit dem Mund pipettieren. Während des Arbeitens mit dem Kit nicht essen, trinken oder rauchen
2. Einzelne Komponenten verschiedener Chargen und Testkits sollten nicht ausgetauscht werden, da dies zu Verfälschungen der Messergebnisse führen kann.
3. Nach dem Gebrauch alle Flaschen wieder fest verschließen, um bakterielle Kontaminationen zu vermeiden.
4. Pipettieren Sie immer alle Komponenten mit frischen sterilen Spitzen.
5. Setzen Sie die einzelnen Kit-Komponenten niemals höheren Temperaturen als 37 °C / 98,6 °F aus (außer MMIFA).
6. Lassen Sie die Objektträger während der gesamten Abarbeitung des Testes niemals austrocknen.
7. Die Objektträger niemals einfrieren!

Es wird empfohlen, dass sich jedes Labor seine eigenen Normalwerte, basierend auf eigener Technik, Kontrollen, Ausrüstung und Patientenpopulation erarbeitet. Eine endgültige klinische Diagnose sollte nicht alleine auf den Ergebnissen des durchgeführten Tests erfolgen, sondern vom Arzt unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde und Laborbefunde erstellt werden.

Wenn die Ergebnisse des Assays nicht mit den angegebenen Akzeptanzbereichen des Kontrollmaterials übereinstimmen, ist der Test ungültig und zu wiederholen. Überprüfen Sie bitte die folgenden Bereiche: Verfallsdatum der (angesetzten) Reagenzien, Lagerungsbedingungen, Pipetten und anderes Material zur Abarbeitung, Photometer, Inkubationszeiten und Waschmethode. Sollten Sie nach Überprüfung der vorgenannten Bereiche Fehler und Abweichungen erkannt haben oder dass die Validationskriterien ohne erkennbaren Grund nicht erreicht werden, setzen Sie sich bitte mit dem Hersteller oder Ihrem Lieferanten in Verbindung.

11. PROBENENTNAHME, VORBEREITUNG UND LAGERUNG

Die Verwendung frischer Serumproben wird empfohlen. Die Blutentnahme hat nach der nationalen Rechtslage zu erfolgen. Blutproben aseptisch entnehmen.

Lipämische, ikterische, hämolytische oder bakteriell kontaminierte Serumproben nicht verwenden.

Bei trüben Proben die Partikel niedrig abzentrifugieren (<1000 x g). Blutproben in saubere, trockene und leere Röhrchen aufnehmen. Nach der Trennung sollten die Serumproben innerhalb von 8 Stunden verwendet werden bzw. bei 2-8 °C / 35,6-46,4 °F für bis zu 2 Wochen gelagert werden. Ist eine längere Lagerung beabsichtigt, sollten die Proben bei -20 °C / -4 °F tiefgefroren werden. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren vermeiden.

12. TESTDURCHFÜHRUNG

e. Vorbereitung

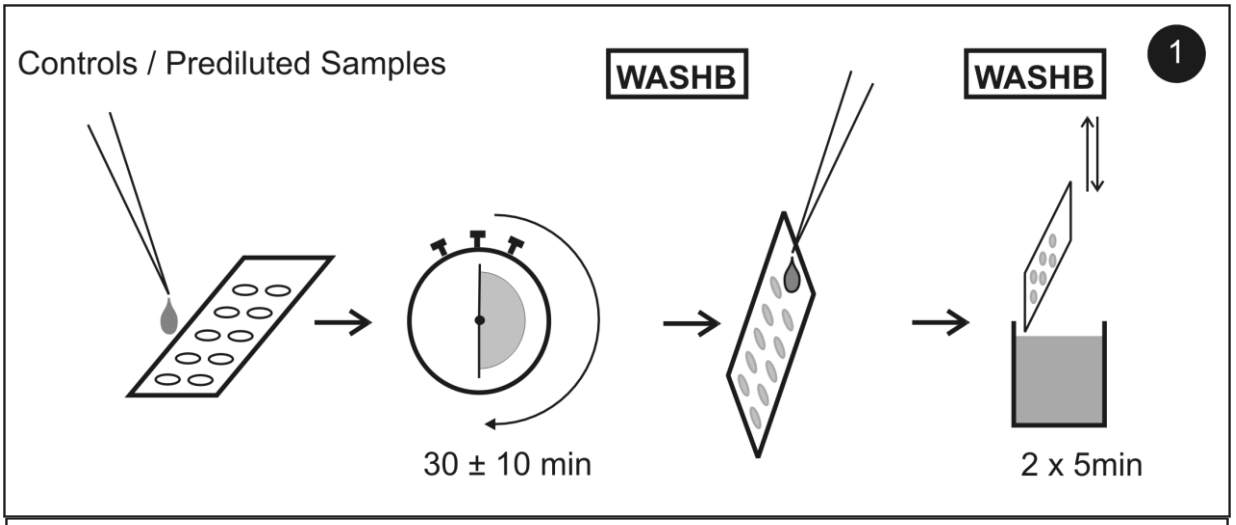
Bringen Sie alle Komponenten vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20-26 °C / 68-78,8 °F) und mischen Sie diese gut. Halten Sie die empfohlenen Inkubationszeiten ein, um ein optimales Testergebnis zu erzielen.

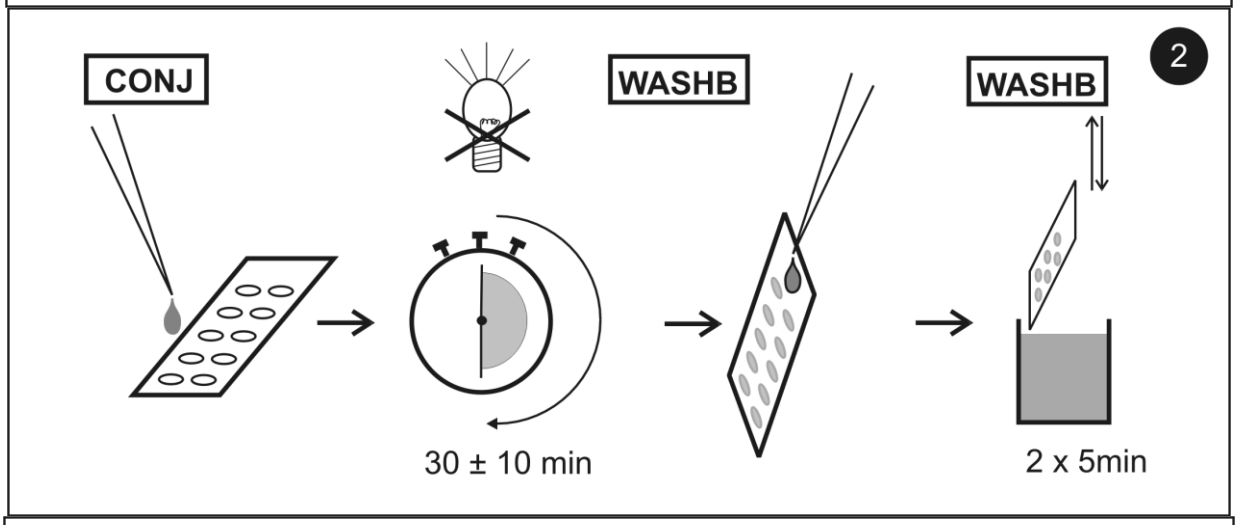
1. Vorbereitung des Waschpuffers: Den konzentrierten Puffer 1:10 in destilliertem Wasser verdünnen.
2. Probenverdünnung: Die Patientenseren mit 1-fach konzentriertem (1x) Probenpuffer verdünnen (für Screening-Titer siehe o.g. Abschnitt ***Anwendung des Kits*** unter Bezugnahme auf die verwendete Produktreferenz). Die Verdünnungen sind je nach Kit zum Nachweis von HEp-2, nDNA, rLKS, EMA, ANCA etc. unterschiedlich.
3. Die Kontrollen sind gebrauchsfertig.
4. Protokollerstellung: Datenauswertungsbögen befinden sich im Abschnitt ***Anwendung des Kits*** unter Bezugnahme auf die verwendete Produktreferenz.
5. Bei erhöhter Viskosität und/oder Trübung des Mounting Mediums (MMIFA): vor Benutzung 15 Minuten im Wasserbad auf 56 °C / 132,8 °F erhitzen. Anschließend wieder auf Raumtemperatur (20-26 °C / 68-78,8 °F) abkühlen lassen. Danach kann das Mounting Medium bei einer Lagerung bei 2-8 °C / 35,6-46,4 °F für 21 Tage verwendet werden.

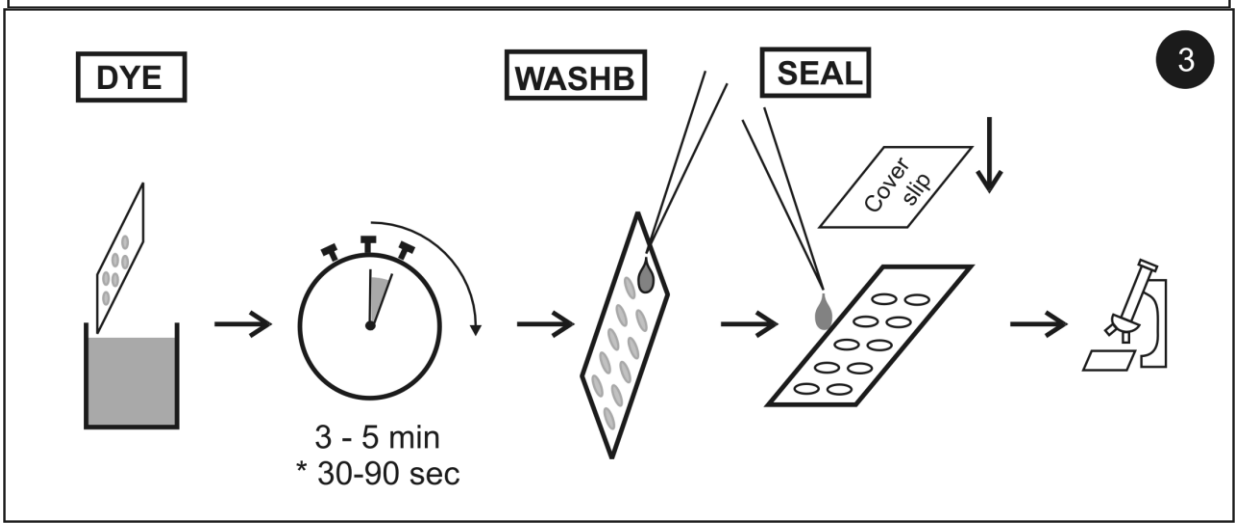
f. Testdurchführung

Nr.	Beschreibung der Schritte
1.	Entfernen Sie die für Ihren Test erforderlichen Objektträger aus der Schutzverpackung und beschriften Sie diese. Vermeiden Sie ein Berühren der beschichteten Gewebe oder Zellen. Den Objektträger niemals austrocknen lassen.
2.	**Vorbereitung der Inkubationsschale:** Platzieren Sie eine kleine Menge deionisiertes oder destilliertes Wasser in der Inkubationswanne und setzen Sie die Objektträger ein. Inkubieren Sie die Objektträger 30 Minuten ± 10 Minuten bei Raumtemperatur in der feuchten Inkubationswanne. Benutzen Sie dieselbe Inkubationszeit für das Konjugat **Erste Inkubation:** Pipettieren Sie von jedem zu testendem Patientenserum und den Kontrollen (gebrauchsfertig) eine ausreichende Menge in die entsprechenden Kavitäten. Vermeiden Sie einen direkten Kontakt der Pipettenspitze mit der Objektträgeroberfläche. Stellen Sie sicher, dass jedes Testfeld vollständig mit dem entsprechenden Serum bzw. der Kontrolle benetzt ist. Hierfür ist es wichtig, so viel Testmaterial wie notwendig zu verwenden, ein Ineinanderlaufen der verschiedenen Serumproben ist jedoch zu vermeiden, da dies zu falschen Resultaten führen kann.
3.	**Waschen:** Nach der Inkubation entnehmen Sie die Objektträger aus der Inkubationswanne und spülen diese kurz unter Verwendung einer Spritzflasche mit Waschpuffer ab. Richten Sie den Waschpufferstrom nicht direkt auf die Kavitäten. Achtung: Um Kreuzkontaminationen auf dem Objektträger zu vermeiden, richten Sie bitte den Waschpufferstrom entlang der Mittellinie des Objektträgers und lassen ihn vorsichtig an der unteren Kante ablaufen. Dann kippen Sie den Objektträger und wiederholen den Vorgang für die andere Reihe, auch hier den Washpufferstrom an der nun unteren Kante ablaufen lassen. Waschen Sie anschließend die Objektträger 10 Minuten mit Waschpuffer in einer Färbeküvette. Vermeiden Sie jegliche Berührung des Substrats mit anderen Objekten. Um optimale Resultate zu erzielen ist es erforderlich, den Waschpuffer einmal nach 5 Minuten zu wechseln. Entnehmen Sie die Objektträger aus der Färbeküvette und entfernen Sie vorsichtig einen verbliebenen Überschuss an Waschpuffer. HINWEIS: Achten Sie darauf, dass die Kavitäten während des Verfahrens nicht austrocknen und das Substrat nicht beschädigt wird. Bitte blotten bzw. trocknen Sie den Objektträger keinesfalls. Lassen Sie den Objektträger nicht länger als einige Sekunden ohne Fluoreszenz-Antikörperreagens stehen.
4.	**Zweite Inkubation**: Nach dem Waschen bringen Sie den Objektträger unverzüglich in die feuchte Kammer und bedecken Sie jedes Testfeld mit einer ausreichenden Menge des gebrauchsfertigen FITC markierten Konjugates, so dass das Testfeld vollständig bedeckt ist. Inkubieren Sie die Objektträger 30 Minuten ± 10 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln.
5.	**Waschen:** Nach der Inkubation entnehmen Sie den Objektträger aus der Inkubationsschale und spülen Sie ihn kurz mit Waschpuffer ab. Verwenden Sie hierzu eine Spritzflasche. Richten Sie den Waschpufferstrom nicht direkt auf die Gewebeschnitte oder Zellen. Waschen Sie anschließend die Objektträger 10 min mit Waschpuffer in einer Küvette. Um optimale Resultate zu erzielen ist es erforderlich, den Waschpuffer einmal nach 5 Minuten zu wechseln.
6.	***Optionale Gegenfärbung:** Verdünnen Sie das Gegenfärbe-Reagens (Evans Blue) 1:3000 in Waschpuffer und mischen Sie es gut. Füllen Sie das Evans Blue in eine Färbeküvette und inkubieren Sie die Objektträger darin. Siehe o.g. Abschnitt ***Anwendung des Kits*** für die jeweiligen Inkubationszeiten der einzelnen Produktreferenzen. Evans Blue unterdrückt eine unspezifische Hintergrund-Fluoreszenz. Entnehmen Sie den Objektträger nach der Inkubationszeit und spülen Sie diesen kurz mit Waschpuffer. Entfernen Sie vorsichtig einen verbliebenen Überschuss an Waschpuffer. Bitte blotten Sie die Objektträger nicht auf saugfähiges Papier, ebenso dürfen diese niemals jeglicher Trocknung unterzogen werden.
7.	**Eindecken**: Geben Sie eine ausreichende Menge an Eindeckmedium (Mounting Medium) entlang der Mittellinie auf den Objektträger. Lassen Sie vorsichtig das Deckglas auf das Eindeckmedium gleiten, vermeiden Sie dabei die Bildung von Luftblasen.
8.	**Mikroskopieren**: Mikroskopieren Sie die Objektträger unverzüglich bei 400 bis 800-facher Vergrößerung mit einem Fluoreszenz-Mikroskop (490 nm Anregungsfilter, 510 nm Grenzfilter).

g. Arbeitsablauf







13. FEHLERBEHEBUNG

FEHLER	MÖGLICHE URSACHEN	LÖSUNG
Geringe Zelldichte	• Zelllyse durch Kontakt mit deionisierten Wasser • Puffer direkt auf die Zellen gespritzt	Halten Sie die angegebenen Waschbedingungen ein
	Proteolytische Enzyme haben die Zellen angegriffen	Inaktivieren Sie das Serum
Ungleichmäßige Fluoreszenz	Serum ist auf den Testfeldern eingetrocknet, Fluoreszenz ist an den Rändern stärker	stets in feuchter Umgebung inkubieren
	Serum bedeckt nicht das Testfeld	Verwenden Sie ein ausreichendes Volumen an Testmaterial
	Kreuzreaktionen zwischen Testfeldern	ein Überlaufen der Proben zwischen den Testfeldern bei der ersten Inkubation vermeiden
	Beschriftung des Objektträgers mit einem Wachsstift erzeugt einen Film	Verwenden Sie einen Bleistift
	Mikroskop falsch justiert	Überprüfen Sie die Justierung
Bild diffus	Objektträger im Kühlschrank ohne Bedeckung gelagert	Versiegeln Sie das Deckglas mit Nagellack oder Paraffinwachs
	I.F. Mikroskop verschmutzt. Mögliche Kratzer auf der Linse	Säubern Sie das Mikroskop entsprechend der Bedienungsanleitung
Geringe oder keine Fluoreszenz	Konjugat und Objektträger eingefroren und wieder aufgetaut	Konjugate und Objektträger bei 2-8 °C / 35,6-46,4 °F lagern.
	Kontrollen wurden verdünnt	Überprüfen Sie die Anleitung, verwenden Sie die gebrauchsfertigen Kontrollen des Kits
	• Bakterielle Kontamination der Seren oder Konjugate • Mikroskop nicht justiert • pH-Wert des Waschpuffers zu niedrig (pH Wert 7,4 ± 0,2)	Bedingungen überprüfen
	FITC Konjugat Licht ausgesetzt	Konjugat unter Vermeidung von Lichteinfall lagern
Background Fluoreszenz	• Falsch gewaschen • Objektträger ist ausgetrocknet • Lipämische, hämolytische Seren • Mikroskop Fehler	• Waschvorgaben überprüfen • Objektträger niemals austrocknen lassen • frische Seren verwenden • Überprüfen Sie die Filter / das Objektiv

14. REGULATORISCHE SYMBOLE

IVD	- Diagnosi in vitro	- For in vitro diagnostic use
	- Pour diagnostic in vitro	- Para uso diagnóstico in vitro
	- In-vitro-Diagnostikum	- In Vitro Διαγνωστικό μέσο
	- Para uso Diagnóstico in vitro	
REF	- Numero d'ordine	- Cataloge number
	- Référence Catalogue	- Numéro de catálogo
	- Katalognummer	- Αριθμός παραγγελίας
	- Número de catálogo	
LOT	- Descrizione lotto	- Lot
	- Lot	- Lote
	- Chargen Bezeichnung	- Χαρακτηρισμός παρτίδας
	- Lote	
UDI	- Identificatore univoco del dispositivo	- Unique device identifier
	- Identifiant unique de l'appareil	- Identificador único del dispositivo
	- eindeutige Produktidentifizierung	- Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής
	- Identificador único do dispositivo	
CE	- Conformità europea	- EC Declaration of Conformity
	- Déclaration CE de Conformité	- Declaración CE de Conformidad
	- Europäische Konformität	- Ευρωπαϊκή συμφωνία
	- Declaração CE de conformidade	
eIFU WWW.AESKU.COM	- Rispettare le istruzioni elettroniche per l'uso	- See electronical instructions for use
	- Voir les instructions d'utilisation électronique	- Siga las instrucciones electrónicas de uso
	- Elektronsiche Gebrauchsanweisung beachten	- Ακολουθήστε τις ηλεκτρονικές οδηγίες χρήσης
	- Seguir as instruções electrónicas de utilização	
	- Da utilizzarsi entro	- Use by
	- Utilise avant le	- Utilizar antes de
	- Verwendbar bis	- Χρήση μέχρι
	- Utilizar antes de	
+2°C +8°C	- Conservare a 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Store at 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Conserver à 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Conservar a 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Lagerung bei 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Φυλάσσεται στους 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Conservar entre 2-8°C (35.6-46.4°F)	
	- Prodotto da	- Manufactured by
	- Fabriqué par	- Fabricado por
	- Hergestellt von	- Κατασκευάζεται από
	- Fabricado por	
DYE	- Colorante Blue-Evans	- Evans-Blue Dye
	- coloration au Bleu Evans	- Colorante Azul de Evans
	- Evans-Blue Färbelösung	- Evans Blue
	- Evans Blue	
CONTROL +	- Controllo positivo	- Positive Control
	- Contrôle Positif	- Control Positivo
	- Positiv Kontrolle	- Θετικός ορός ελέγχου
	- Controlo positivo	
CONTROL −	- Controllo negativo	- Negative Control
	- Contrôle Négatif	- Control Negativo
	- Negativ Kontrolle	- Αρνητικός ορός ελέγχου
	- Controlo negativo	
SEAL	- Mezzi di montaggio	- Mounting media
	- milieu de montage	- Medio de montaje
	- Mounting Medium	- Μέσο μονιμοποίησης
	- Meio de montagem	
CONJ	- Coniugato	- Conjugate
	- Conjugé	- Conjugado
	- Konjugat	- Σύζευγμα
	- Conjugado	
	- Vetrino per microscopio	- Microscope slide
	- lame de microscope	- Portaobjetos
	- Objektträger	- Αντικειμενοφόρο πλακίδιο
	- Lâmina	
WASHB 10x	- Tampone di lavaggio	- Wash Buffer
	- Tampon de Lavage	- Solución de lavado
	- Waschpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	- Solucão de lavagem	
SB 1x	- Tampone di campione	- Sample Buffer
	- Tampon de Echantillons	- Solución de muestras
	- Probenpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	- Solução para amostras	

	- Numero di determinazioni	- Number of determnations
	- Nombre de déterminations	- Número de determinaciones
	- Anzahl der Prüfungen	- Αριθμός προσδιορισμών
	- Número de determinações	
	- Non riutilizzare	- Do not reuse
	- Ne pas réutiliser	- No reutilizar
	- Nicht wiederverwenden	- Μην επαναχρησιμοποιείτε
	- Não reutilizar	
	- Proteggere dall'esposizione alla luce	- Protect from exposure to light
	- Protéger de l'exposition à la lumière	- Proteger de la exposición a la luz
	- Vor Sonnenlicht schützen	- Προστασία από την έκθεση στο φως
	- Proteger da exposição à luz	
	- Conservare all'asciutto	- Store dry
	- Stocker au sec	- Almacenar en seco
	- Trocken aufbewahren	- Αποθηκεύστε ξηρά
	- Armazenar em local seco	
	- Non utilizzare se la confezione è danneggiata e consultare le istruzioni per l'uso	- Do not use if package is damaged and consult instructions for use
	- Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé et consulter le mode d'emploi.	- No utilizar si el envase está dañado y consultar las instrucciones de uso
	- Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist, und Gebrauchsanweisung beachten	- Μην χρησιμοποιείτε εάν η συσκευασία έχει υποστεί ζημιά και συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης.
	- Não utilizar se a embalagem estiver danificada e consultar as instruções de utilização	