AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKUSLIDES®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUKCJA OBSŁUGI

***AESKUSLIDES®* ANA HEp-2**

Ref 51.1xx

CE

AESKUSLIDES®
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



eIFU
WWW.AESKU.COM

INSTRUKCJA OBSŁUGI

ANA HEp-2

Odniesienie do normy	Opis	Testy
51.100	**ANA HEp-2** (12 studzienek)	120
51.101	**ANA HEp-2** (12 studzienek)	120
51.100.Bulk5	**ANA HEp-2** (12 studzienek) Bulk Kit	600
51.101.Bulk5	**ANA HEp-2** (12 studzienek) Bulk Kit	600
51.180	**ANA HEp-2** (18 studzienek)	180
51.181	**ANA HEp-2** (18 studzienek)	180
51.180.Bulk5	**ANA HEp-2** (18 studzienek) Bulk Kit	900
51.181.Bulk5	**ANA HEp-2** (18 studzienek) 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

Spis treści

1. PRZEZNACZENIE 1
2. ZASTOSOWANIE KLINICZNE 1
3. PROCEDURA DLA ZESTAWU TESTOWEGO 2
4. INTERPRETACJA 2
4.1. Wzorce błon jądrowych 2
4.2. Wzorce jądrowe 3
4.3. Wzorce jąderkowe 4
4.4. Wzorce wrzeciona podziałowego 5
4.5. Wzorce fluorescencji cytoplazmatycznej 6
4.6. Ujemny 7
4.7. Nieokreślony 7
4.8. Załącznik 8
5. CHARAKTERYSTYKA SKUTECZNOŚCI SWOISTEJ 9
5.1. Odtwarzalność i precyzja 9
6. ARKUSZ INTERPRETACJI DANYCH 10
7. STANDARDOWA ZAWARTOŚĆ ZESTAWU 11
8. ZAWARTOŚĆ WSPÓLNYCH ODCZYNNIKÓW 13
8.1. Wspólne odczynniki 13
8.2. Materiały wymagane, ale niedołączone 14
9. PRZECHOWYWANIE I OKRES TRWAŁOŚCI 14
10. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI DOTYCZĄCE STOSOWANIA 15
11. POBIERANIE PRÓBEK, POSTĘPOWANIE Z NIMI I ICH PRZECHOWYWANIE 16
12. PROCEDURA OZNACZENIA 16
13. ROZWIĄZYWANIE PROBLEMÓW 19
14. SYMBOLE REGULACYJNE 20

ANA HEp-2

1. PRZEZNACZENIE

***AESKUSLIDES*® ANA HEp-2** to oznaczenie z wykorzystaniem metody immunofluorescencji pośredniej służące do wykrywania jądrowych lub cytoplazmatycznych autoprzeciwciał w surowicy ludzkiej.

Oznaczenie jest narzędziem w diagnostyce różnicowej układowych chorób reumatycznych, takich jak toczeń rumieniowaty układowy (TRU), mieszane choroby tkanki łącznej (ang. mixed connective tissue diseases, MCTD), twardzina, zespół Sjögrena (ZS), zapalenie wielomięśniowe i zapalenie skórno-mięśniowe.

2. ZASTOSOWANIE KLINICZNE

Przeciwciała przeciwjądrowe (ang. anti-nuclear antibodies, ANA) skierowane przeciwko różnym antygenom jądrowym i cytoplazmatycznym występują z dużą częstością w układowych chorobach reumatycznych i dlatego są ważnym narzędziem diagnostyki różnicowej. Na przykład przeciwciała SS-A (Ro) i SS-B (La) są związane z zespołem Sjögrena (SS), a przeciwciała przeciwko dsDNA (przeciwko nDNA), przeciwko SM, przeciwko histonom i przeciwko nukleosomom są związane z TRU (toczeń rumieniowaty układowy); przeciwciała przeciwko RNP z mieszanymi chorobami tkanki łącznej (MCTD) i TRU, przeciwciała przeciwko Scl-70 z twardziną układową (postępującą twardziną układową [ang. (progressive systemic sclerosis, PSS])), przeciwciała przeciwko Jo-1 z zapaleniem wielomięśniowym i zapaleniem skórno-mięśniowym, a przeciwciała przeciwko centromerom z zespołem CREST. Szczegółowe informacje znajdują się w punkcie 4 poniżej.

Test metodą immunofluorescencji pośredniej (ang. indirect immunofluorescence test, IFT) na komórkach eukariotycznych, np. HEp2, jest uznaną metodą wykrywania ANA. Chociaż IFT jest czułym testem, jest pracochłonny w przypadku badania dużej liczby próbek pacjentów i jest podatny na błędy wynikające z ludzkiej interpretacji i zmienności mikroskopu fluorescencyjnego. Swoistość pojedynczych przeciwciał musi być określona za pomocą bardziej szczegółowych testów, na przykład ELISA lub immunoblot, wykorzystujących swoiste antygeny docelowe do prostego i niezawodnego różnicowania ANA.

Charakterystyka antygenu: Komórki HEp-2

Reaktywność krzyżowa: Reaktywność krzyżowa jest nieznana.

Wykrywanie przeciwciał opiera się na zasadzie oznaczenia immunofluorescencji pośredniej (IIFA). Szklane szkiełka mikroskopowe są pokrywane wycinkami tkanek lub komórkami (komórki HEp-2 (ANA), granulocytami (ANCA) lub *Crithidia luciliae* (nDNA)). Jeśli surowica pacjenta zawiera swoiste przeciwciała, ulegną one związaniu podczas pierwszej inkubacji. Po usunięciu niezwiązanego materiału podczas etapów płukania związane przeciwciała są wykrywane przez sprzężone z fluoresceiną przeciwciała przeciwko ludzkim immunoglobulinom podczas drugiej inkubacji. Specyficzne zielone barwienie fluorescencyjne kompleksu antygen-przeciwciało można wizualizować za pomocą mikroskopu fluorescencyjnego.

3. PROCEDURA DLA ZESTAWU TESTOWEGO

Szczegółowe instrukcje znajdują się w punkcie 12 instrukcji zatytułowanym Procedura oznaczenia. W przypadku zestawów ANA HEp-2 należy stosować następujące parametry:

- Czas barwienia kontrastowego: od 30 do 90 sekund
- Zalecane miano przesiewowe:
  - 1:80 dla próbek pobranych od osób dorosłych
  - 1:40 dla próbek pobranych od dzieci

4. INTERPRETACJA

HEp-2 to ludzka komórka nabłonkowa wyhodowana z tkanki pacjenta cierpiącego na raka krtani. Substrat zapewnia jednorodny wzrost komórek i nie zawiera zewnątrzkomórkowych substancji pomocniczych. Komórki mitotyczne mają ogromne znaczenie dla oceny próbek, ponieważ wzorce jądrowe mogą zostać bardziej dokładnie zdefiniowane.

Odpowiednie miano końcowe to takie, w którym surowica pacjenta wykazuje prostą dodatnią fluorescencję.

Ocena powinna być zawsze przeprowadzana z kontrolą dodatnią i ujemną. Słaba fluorescencja jąder komórkowych z mianami od 1:40 (dzieci) do 1:80 (dorośli) lub niejasności w odniesieniu do wyników klinicznych powinny być sprawdzane za pomocą kontroli. W takim przypadku próbki powinny być pobierane co około 6 tygodni i badane w podobny sposób.[1]

4.1. Wzorce błon jądrowych

4.1.1. Wzorzec gładkiej błony jądrowej

Gładka, jednorodna, pierścieniowa fluorescencja błony jądrowej w komórkach interfazy. Niektóre próbki z silnymi przeciwciałami mogą wyglądać, jakby wybarwione było całe jądro. Podobny wzorzec obserwuje się w komórkach telofazy. W komórkach metafazy fluorescencja jest rozproszona w cytoplazmie, a materiał chromosomalny nie jest wybarwiony.

4.1.2. Punktowy wzorzec błony jądrowej

Nieciągła punktowa fluorescencja wzdłuż błony jądrowej. Podczas ogniskowania przez jądro punktowe zabarwienie można zobaczyć na powierzchni całego jądra.

Podobny wzorzec obserwuje się w telofazie. W metafazie fluorescencja jest rozproszona w całej cytoplazmie. Niektóre próbki z silnymi przeciwciałami mogą wyglądać, jakby wybarwione było całe jądro.

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

4.2. Wzorce jądrowe

4.2.1. Jednorodny wzorzec jądrowy

Jednolita, rozproszona fluorescencja obejmująca całą nukleoplazmę, czasami zaakcentowana na obwodzie jądra, może być związana z różnymi przeciwciałami, głównie przeciwko składnikom chromosomalnym (DNA, histony). W niektórych przypadkach można zaobserwować bardziej intensywne wybarwienie wewnętrznej krawędzi jądra (obwódka jądrowa).

Niektóre próbki mogą wykazywać dodatkowe obwodowe wybarwienie jąderkowe. Wybarwienie jąderkowe jest zmienne. W metafazie widoczne jest jednorodne lub peryferyjne wybarwienie chromatyny.

Można wyróżnić dwa nieznacznie różniące się wzorce wybarwienia:

- jednorodny wzorzec jądrowy z jednorodnym wybarwieniem jąderkowym;
- jednorodny wzorzec jądrowy z brakiem wybarwienia jąderek.

4.2.2. Plamisty wzorzec jądrowy

Istnieje wiele plamistych wzorców jądrowych, ale mogą być one trudne do rozróżnienia. Akceptowalna dokładność pozwala na rozróżnienie siedmiu wzorców. W sześciu z tych wzorców chromosomy metafazowe są ujemne, a we wzorcu centromerowym są dodatnie.

4.2.3. Wzorzec jądrowy z dużymi plamkami (macierz jądrowa)

Zmienne, duże plamki w całej nukleoplazmie, wcześniej nazwane wybarwieniem „macierzy jądrowej", najprawdopodobniej spowodowane wybarwieniem granulek interchromatyny. Jąderka są ujemne. Cytoplazma metafazy i telofazy wykazuje rozproszone plamki i ujemne płytki chromatynowe.

4.2.4. Wzorzec jądrowy z grubymi plamkami

Gęsto rozmieszczone, różnej wielkości plamki, zwykle związane z większymi plamkami, w nukleoplazmie komórek interfazowych. Jąderka są ujemne. Cytoplazma metafazy i telofazy zawiera plamki z kondensacją wokół płytki chromatynowej, która jest ujemna. Ten wzorzec jest najbardziej związany z barwieniem spliceosomów.

4.2.5. Wzorzec jądrowy z drobnymi plamkami

Drobne plamki w jednolitym rozkładzie są czasami bardzo gęsto rozmieszczone, dzięki czemu uzyskuje się prawie jednorodny wzorzec. Jąderka mogą być dodatnie (szczególnie w przypadku przeciwciał przeciwko SSB/La) lub ujemne. Cytoplazma komórek metafazy wykazuje drobne plamki i kondensację wokół płytek chromatyny, które same w sobie są ujemne. Jąderka komórek telofazy mogą być dodatnie, czasami wybarwiając się silniej niż komórki interfazy.

4.2.6. Ziarnisty wzorzec podobny do Scl-70/Topo I

Jednolite, drobnoziarniste wybarwienie nukleoplazmy i obszarów chromosomalnych komórek metafazy i telofazy, często z zaakcentowanymi dodatnimi jąderkami. Barwienie może wyglądać na jednorodne przy mniejszych powiększeniach. Barwienie to jest widoczne nie tylko w przypadku surowic dodatnich przeciwko -Scl-70.

4.2.7. Pleomorficzny plamisty wzorzec jądrowy

Jądra komórek proliferujących (faza S) wykazują różnorodne plamki, od drobnych do bardzo grubych nieregularnych plamek nukleoplazmy (10–50% komórek, w zależności od preparatu komórkowego). W niektórych komórkach zabarwione są również jąderka. Komórki w stanie spoczynku (faza G) i metafazy są ujemne. Ten wzorzec jest również znany jako wzorzec „przeciwko PCNA" (antygen jądrowy przeciwko komórkom proliferującym), który może być widoczny w połączeniu z innymi wzorcami.

4.2.8. Wzorzec centromerowy

Raczej jednolite, rozproszone plamki zlokalizowane w całym jądrze (40–60 plamek na jądro). Komórki telofazy i metafazy zawsze wykazują te plamki w skondensowanym materiale chromosomalnym. Wzorzec ten jest wytwarzany przez przeciwciała przeciwko kinetochorom chromosomów, które mogą rozpoznawać kilka białek centromerowych (CENP-A, B, C, D, E).

4.2.9. Wiele „nuclear dots" (NSp-1)

5–10 kropek na jądro zabarwiających podstruktury jądrowe, często nazywane ciałkami PML (ze względu na ich wyraźną ekspresję w białaczce promielocytowej), chromosomy komórek metafazy i telofazy są ujemne.

4.2.10. Kilka „nuclear dots" (ciałko zwinięte)

2–6 kropek na jądro zlokalizowanych w nukleoplazmie, często w pobliżu jąderka. Brak wybarwienia płytek chromatyny metafazy lub telofazy.

4.3. Wzorce jąderkowe

4.3.1. Jednorodny wzorzec jąderkowy

Wykazuje rozproszoną jednolitą fluorescencję całego jąderka i brak wybarwienia chromosomów.

4.3.2. Zlepiony wzorzec jąderkowy

Jasno skupione większe granulki odpowiadające wzorowi centrów fibrylarnych jąderek, jak również ciałek zwiniętych. W komórkach mitotycznych płytka metafazy i telofazy wydaje się mieć fluorescencyjną nieregularną krawędź przypominającą wachlarz.

4.3.3. Punktowy wzorzec jąderkowy

Małe rozproszone ziarna głównie w centrum jąderek. W komórkach metafazy 2–5 oddzielonych plamek jest widocznych w ciałku chromatynowym, co odpowiada regionom organizującym jąderka.

4.4. Wzorce wrzeciona podziałowego

4.4.1. Wzorzec wrzeciona centroli (centrosomu)

Wrzeciono metafazy wykazuje oddzieloną plamkę fluorescencyjną na każdym z biegunów wrzeciona leżących prostopadle do siebie. Jedna lub dwie jasne plamki ściśle przylegające do jądra są widoczne w cytoplazmie komórek interfazowych.

4.4.2. Wzorzec biegunów wrzeciona (NuMA)

Wybarwienie tylko obszaru biegunowego wrzeciona w komórkach metafazy (wzorzec w kształcie trójkąta lub banana). Włókna wrzeciona są ujemne, z bardziej liniowym wzorcem w komórkach telofazy. Wzorzec jądrowy z drobnymi plamkami z ujemnymi jąderkami jest widoczny głównie w komórkach w fazie spoczynku i telofazie, ale mogą one być również ujemne.

4.4.3. Wzorzec włókien wrzeciona

Barwienie całego aparatu włókien wrzeciona od bieguna do płytki chromatynowej w komórkach metafazy. Brak wybarwienia chromosomów w komórkach w fazie spoczynku lub podziału.

4.4.4. Wzorzec ciałka środkowego (MSA-2)

W komórkach profazy i metafazy fluorescencja jest zlokalizowana w regionie chromosomalnym jako cienkie smugi prostopadłe do krawędzi płytki metafazy. W telofazie wybarwienie jest ograniczone do bruzdy rozszczepienia i wąskiego łącznika między komórkami, kończącymi cytokinezę. Komórki w fazie S i G2 są wybarwione oddzielonymi lub niejednolitymi plamkami jądrowymi. Przyczyną powstania tego wzorca są przeciwciała przeciwko antygenowi MSA-2 (Mitotic Spindle Antigen 2).

4.4.5. Wzorzec CENP-F (MSA-3)

Najbardziej charakterystyczną cechę można zaobserwować w komórkach metafazy, gdzie wzorzec składa się z dwóch zbiorów gęstych dużych granulek otaczających chromosomalną płytkę metafazy jako uchwyt, często wyglądający jak zamek błyskawiczny. Granulki te są częścią centromeru. Otaczająca cytoplazma jest zabarwiona w sposób rozproszony. W komórkach profazy widoczne są chromosomy pokryte gęsto punktowym wzorcem. W kilku komórkach interfazowych można zaobserwować bardzo drobny, gęsty wzorzec plamek jądrowych. Przyczyną powstania tego wzorca są przeciwciała przeciwko antygenowi MSA-3 (Mitotic Spindle Antigen3), który może być identyczny z białkiem centromerowym (CENP-F).

4.5. Wzorce fluorescencji cytoplazmatycznej

4.5.1. Wzorzec cytoplazmatyczny z drobnymi plamkami

Drobne granulki rozproszone w cytoplazmie, stają się bardziej widoczne na obrzeżach komórki, czasami przypominając gwiezdny pył. Brak barwienia jąder lub jąderek. Ten wzorzec jest charakterystyczny dla przeciwciał przeciwko syntetazom tRNA. Materiał chromosomalny w komórkach metafazy jest ujemny.

4.5.2. Rozproszony wzorzec cytoplazmatyczny

Obserwuje się bardzo drobne, gęste, ziarniste lub jednorodne zabarwienie lub mętny wzorzec pokrywający całą cytoplazmę lub jej część. Brak barwienia jąder, ale jąderka mogą być jednorodnie zabarwione, jeśli przeciwciała są skierowane na białka rybosomalnego RNA, których prekursory znajdują się w jąderkach. Materiał chromosomalny w komórkach metafazy jest ujemny.

4.5.3. Wzorzec przypominający mitochondrium

Większe nieregularne granulki rozciągające się od jądra w całej cytoplazmie w siateczkowatej sieci. Główny rozpoznawany klaster antygenów, M2, obejmuje cztery główne białka błony wewnętrznej mitochondriów. Jądra i jąderka są ujemne, ale silnie dodatnie surowice mogą wskazywać na plamiste zabarwienie jąder.

4.5.4. Wzorzec przypominający lizosom

Przyczyną występowania nieregularnych pośrednich lub dużych organelli rozmieszczonych w cytoplazmie mogą być przeciwciała skierowane na organelle, takie jak lizosomy lub peroksysomy – brak barwienia jąder lub jąderek, ale występuje rozproszone zabarwienie cytoplazmy dzielących się komórek.

4.5.5. Wzorzec przypominający aparat Golgiego

Barwienie organelli biegunowej przylegającej do jądra i składającej się z nieregularnych dużych granulek. Jądra i jąderka są ujemne. Rozproszone zabarwienie cytoplazmy dzielących się komórek z zaakcentowaniem wokół materiału chromosomalnego.

4.5.6. Wzorzec podobny do aktyny

Włókna naprężeniowe leżące w prostej płaszczyźnie ogniskowej tuż pod błoną plazmatyczną są zabarwione. Jądra, jąderka i chromosomy metafazy są ujemne. Łańcuchy aktyny rozciągają się na całej długości komórki w pobliżu błony plazmatycznej. Na błonie komórkowej mogą być również widoczne wypustki przypominające dendryty.

4.5.7. Wzorzec przypominający wimentynę

Obfite drobne włókna rozciągające się przez całą cytoplazmę, barwiące promienistą sieć włókien, a także zagregowane wiązki wokół jąder w formie zwiniętej. Jądra i jąderka są ujemne.

4.6. Ujemny

4.6.1. Ujemne (przykład 1)

Praktycznie nie widać zielonej fluorescencji cytoplazmy ani jąder. Pojedyncze i często nieregularne zielone plamki pojawiające się w polu widzenia przedstawiają skupiska koniugatu. Struktury komórkowe mogą wyglądać na brązowawe (np. jąderka), szczególnie w starych preparatach na szkiełkach lub przechowywanych z użyciem środków zapobiegających blaknięciu. Szczątki komórek mogą powodować powstawanie artefaktowych zielonkawych plam fluorescencyjnych.

4.6.2. Ujemny (przykład 2)

Bardzo słaba zielonkawa fluorescencja jąder, cytoplazmy lub obu, osiągająca intensywność poniżej intensywności próbki słabo dodatniej. Można to najlepiej ocenić, jeśli słabo dodatnia surowica ANA zostanie włączona jako kontrola czułości w każdym codziennym przebiegu, z wyraźnie odciętą surowicą kontrolną ANA-ujemną i wyraźnie odciętą surowicą kontrolną ANA-dodatnią.

4.7. Nieokreślony

Każdy inny wzorzec barwienia związany z organellami subkomórkowymi lub strukturami, które nie zostały uwzględnione w tej taksonomii klasyfikacji.

4.8. Załącznik

Laboratoria używające wycinków kriostatu tkanek zwierzęcych, tj. nerek lub wątroby gryzoni, jako substratu ANA często pomijają wzorce fluorescencji, takie jak pleomorficzny plamisty wzorzec jądrowy, wzorzec centromerowy, wiele „nuclear dots", zwinięte „nuclear dots", niektóre wzorce jąderkowe i większość wzorców cytoplazmatycznych. Wzorce związane z wrzecionem podziałowym również nie są widoczne. Wzorzec podobny do mitochondriów można zaobserwować w wielu tkankach jako wzorzec z grubymi plamkami, wcześniej wykrywany na wycinkach nerek zwierzęcych. Wzorzec gładkiej błony jądrowej jest często bardzo wyraźnie widoczny na wątrobie szczurzej. Wartość odcięcia dla pozytywnych komórek ANA lub HEp-2 jest zwykle ustawiana powyżej 1:80, podczas gdy w przypadku wycinków tkanek jest ona zwykle ustawiana na niższe rozcieńczenie.

Wzorce barwienia są powszechnie rozpoznawane razem w pojedynczej surowicy, tj. liczne „nuclear dots" wraz ze wzorcem przypominającym mitochondrium (oba charakterystyczne dla pierwotnego żółciowego zapalenia dróg żółciowych) i pleomorficznym plamistym wzorcem jądrowym wraz z jednorodnym jądrowym, gruboziarnistym lub drobno plamistym wzorcem jądrowym (oba charakterystyczne dla tocznia rumieniowatego układowego). Ponadto wzorzec centromerowy jest często obserwowany razem z wzorcem przypominającym mitochondrium.

Należy pamiętać, że niektóre laboratoria i zestawy wykorzystują koniugaty FITC skierowane do wszystkich klas Ig. Niniejszy glosariusz opiera się na wynikach badań z użyciem koniugatu swoistego dla IgG.

5. CHARAKTERYSTYKA SKUTECZNOŚCI SWOISTEJ

Sto trzydzieści osiem zamrożonych próbek przetestowano na dwóch partiach odczynników innej firmy i dwóch partiach ***AESKUSLIDES®***. 118 próbek klinicznych było przechowywanych przez kilka lat. Uzyskano je od pacjentów ocenianych pod kątem choroby reumatycznej. Dodatkowo uwzględniono dwadzieścia próbek uzyskanych podczas „pikników zdrowia". Próbki uzyskane podczas „pikników zdrowia" pochodziły od populacji bez znanych klinicznych objawów choroby reumatycznej. Porównanie dwóch zestawów miało na celu wykazanie porównywalności systemów ANA HEp-2 dwóch niezależnych firm, w tym spójności wzorców.

a. Tabela 1: Przedziały ufności – połączony zbiór danych

		Predykat		
		Dodatni	**Ujemny**	**Łącznie**
***AESKUSLIDES®* ANA HEp-2**	**Dodatni**	116	0	116
	Ujemny	0	22	22
	Łącznie	116	22	138

Dodatnie, % zgodności = 116/116 = 100 % (^{95}% CI: 96,8–100 %)
Ujemne, % zgodności = 22/22 = 100 % (^{95}% CI: 85,1–100 %)

b. Tabela 2: Połączony zestaw danych – porównanie wzorców Predicate a Aesku

Wzorzec	n	Predykat	*AESKUSLIDES®*
Jednorodny	32	32	32
Plamisty	82	82	82
Jąderkowy	20	20	20
Centromerowy	6	6	6
Peryferyjny	3	3	3
Błona jądrowa	1	1	1

N =144[2]

Próbki kliniczne pochodziły od pełnego spektrum osób z chorobami autoimmunologicznymi, w tym TRU, twardziną, twardziną – zespołem CREST, zespołem Sjögrena, MCTD, zespołem antyfosfolipidowym, reumatoidalnym zapaleniem stawów, zapaleniem wielomięśniowym / zapaleniem skórno-mięśniowym, TRU indukowanym lekami itp.

5.1. Odtwarzalność i precyzja

Trzy różne partie oznaczenia ***AESKUSLIDES®*** zostały przebadane z 15 próbkami surowicy, obejmującymi pełny zestaw wzorców. Próbki te zostały rozcieńczone w stosunku od 1:40 do 1:10240, a każde rozcieńczenie zostało przeanalizowane przez dwóch niezależnych diagnostów na wszystkich trzech partiach. Kryterium akceptacji było odchylenie intensywności fluorescencji o +/- 1. Kryteria akceptacji zostały spełnione dla wszystkich próbek, wszystkich rozcieńczeń, wszystkich partii i wszystkich niezależnych diagnostów – bardziej szczegółowe dane na żądanie.

[2] Rozbieżność między N=138 z Tabeli 1 i N=144 z Tabeli 2 jest spowodowana tym, że niektóre próbki nie mają żadnego wzorca (np. próbka nr 5), a niektóre próbki mają dwa wzorce (np. próbka nr 2). Tabela 2 odnosi się tylko do liczby wzorców.

6. ARKUSZ INTERPRETACJI DANYCH

ANA HEp-2

Data:	PARTIA:
Nr szkiełka:	Operator:

Nr studzienki	Identyfikator	Współczynnik rozcieńczenia	F.I.	Chromosomy (mitoza)	Nukleoplazma	Jąderko	Cytoplazma	Autoprzeciwciała	Uwagi
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									
14									
15									
16									
17									
18									

7. STANDARDOWA ZAWARTOŚĆ ZESTAWU

		SZKIEŁKA				KONIUGAT			KONTROLA DODATNIA		
Nr kat. zestawu	**Opis zestawu**	**Nr kat.**	**Studzienki**	**Czym pokryte**	**Ilość**	**Nr kat.**	**Opis**	**Ilość**	**Nr kat.**	**Opis**	**Ilość**
51.100	**ANA HEp-2** (12 studzienek)	**S51.100**	12	Komórki ANA-HEp-2	10	**C51.100**	IgG z niebieskim korkiem: roztwór o lekko niebieskim zabarwieniu. Zawiera: BSA, przeciwciało przeciwko ludzkiej immunoglobulinie IgG znakowane fluoresceiną (FITC)	1x 4,8 ml	**PC51.100**	Kontrola wzorca ANA (homogenny), z czerwonym korkiem: bezbarwny roztwór. Zawiera: surowicę ludzką (rozcieńczoną), azydek sodu <0,1% (środek konserwujący)	1x 0,5 ml
51.101	**ANA HEp-2** (12 studzienek)					**C51.101**	IgG z niebieskim korkiem: roztwór o lekko niebieskim zabarwieniu. Zawiera: BSA, przeciwciało przeciwko ludzkiej immunoglobulinie IgG znakowane fluoresceiną (FITC) zawierające: BSA, przeciwciało przeciwko ludzkiej immunoglobulinie IgG znakowane fluoresceiną (FITC) (H+L)		**PC51.101**	Kontrola wzorca ANA (homogenny), z czerwonym korkiem: bezbarwny roztwór. Zawiera: surowicę ludzką (rozcieńczoną), azydek sodu <0,1% (środek konserwujący)	1x 0,5 ml
51.100. Bulk5	**ANA HEp-2** (12 studzienek) **Bulk kit**				50	**C51.100. Bulk**	IgG z niebieskim korkiem: roztwór o lekko niebieskim zabarwieniu. Zawiera: BSA, przeciwciało przeciwko ludzkiej immunoglobulinie IgG znakowane fluoresceiną (FITC)	2x 10 ml	**PC51.100**	Kontrola wzorca ANA (homogenny), z czerwonym korkiem: bezbarwny roztwór. Zawiera: surowicę ludzką (rozcieńczoną), azydek sodu <0,1% (środek konserwujący)	1x 0,5 ml
51.101. Bulk5	**ANA HEp-2** (12 studzienek) **Bulk kit**					**C51.101. Bulk**	IgG z niebieskim korkiem: roztwór o lekko niebieskim zabarwieniu. Zawiera: BSA, przeciwciało przeciwko ludzkiej immunoglobulinie IgG znakowane fluoresceiną (FITC) zawierające: BSA, przeciwciało przeciwko ludzkiej immunoglobulinie IgG znakowane fluoresceiną (FITC) (H+L)		**PC51.101**	Kontrola wzorca ANA (homogenny), z czerwonym korkiem: bezbarwny roztwór. Zawiera: surowicę ludzką (rozcieńczoną), azydek sodu <0,1% (środek konserwujący)	1x 0,5 ml

		SZKIEŁKA				KONIUGAT			KONTROLA DODATNIA		
Nr kat. zestawu	**Opis zestawu**	**Nr kat.**	**Studzienki**	**Czym pokryte**	**Ilość**	**Nr kat.**	**Opis**	**Ilość**	**Nr kat.**	**Opis**	**Ilość**
51.180	**ANA HEp-2** (18 studzienek)	**S51.180**	18	Komórki ANA-HEp-2	10	**C51.100. Bulk**	IgG z niebieskim korkiem: roztwór o lekko niebieskim zabarwieniu. Zawiera: BSA, przeciwciało przeciwko ludzkiej immunoglobulinie IgG znakowane fluoresceiną (FITC)	1x 10 ml	**PC51.100**	Kontrola wzorca ANA (homogenny), z czerwonym korkiem: bezbarwny roztwór. Zawiera: surowicę ludzką (rozcieńczoną), azydek sodu <0,1% (środek konserwujący)	1x 0,5 ml
51.181	**ANA HEp-2** (18 studzienek)					**C51.101. Bulk**	IgG z niebieskim korkiem: roztwór o lekko niebieskim zabarwieniu. Zawiera: BSA, przeciwciało przeciwko ludzkiej immunoglobulinie IgG znakowane fluoresceiną (FITC) zawierające: BSA, przeciwciało przeciwko ludzkiej immunoglobulinie IgG znakowane fluoresceiną (FITC) (H+L)		**PC51.101**	Kontrola wzorca ANA (homogenny), z czerwonym korkiem: bezbarwny roztwór. Zawiera: surowicę ludzką (rozcieńczoną), azydek sodu <0,1% (środek konserwujący)	1x 0,5 ml
51.180. Bulk5	**ANA HEp-2** (18 studzienek) **Bulk kit**				50	**C51.100. Bulk**	IgG z niebieskim korkiem: roztwór o lekko niebieskim zabarwieniu. Zawiera: BSA, przeciwciało przeciwko ludzkiej immunoglobulinie IgG znakowane fluoresceiną (FITC)	3x 10 ml	**PC51.100**	Kontrola wzorca ANA (homogenny), z czerwonym korkiem: bezbarwny roztwór. Zawiera: surowicę ludzką (rozcieńczoną), azydek sodu <0,1% (środek konserwujący)	1x 0,5 ml
51.181. Bulk5	**ANA HEp-2** (18 studzienek) **Bulk kit**					**C51.101. Bulk**	IgG z niebieskim korkiem: roztwór o lekko niebieskim zabarwieniu. Zawiera: BSA, przeciwciało przeciwko ludzkiej immunoglobulinie IgG znakowane fluoresceiną (FITC) zawierające: BSA, przeciwciało przeciwko ludzkiej immunoglobulinie IgG znakowane fluoresceiną (FITC) (H+L)		**PC51.101**	Kontrola wzorca ANA (homogenny), z czerwonym korkiem: bezbarwny roztwór. Zawiera: surowicę ludzką (rozcieńczoną), azydek sodu <0,1% (środek konserwujący)	1x 0,5 ml

UWAGA: Zawartość pozostałych składników zestawów, tj. odczynników wspólnych (kontrola ujemna, środek do osadzania preparatu itp.) opisano poniżej w punkcie 8 ZAWARTOŚĆ WSPÓLNYCH ODCZYNNIKÓW.

8. ZAWARTOŚĆ WSPÓLNYCH ODCZYNNIKÓW

8.1. Wspólne odczynniki

Nr kat. zestawu	Ilość	Nr kat.	Odczynnik	Objętość	Opis	Gotowy do użycia
Wszystkie zestawy	1x	**NCIFA**	Kontrola ujemna	0,5 ml	Z zielonym korkiem: bezbarwny roztwór. Zawiera: surowicę ludzką (rozcieńczoną), azydek sodu <0,1% (środek konserwujący)	TAK
Wszystkie zestawy	1x	*** EBIFA**	Błękit Evansa 0,2%	1,5 ml	Z białym korkiem: niebieski roztwór. Zawiera: sól fizjologiczną buforowaną fosforanami, błękit Evansa. Rozcieńczyć błękit Evansa 0,2% w stosunku 1:3000 w 1x WBIFA	NIE
51.100; 51.101; 51.180; 51.181	1x	**MMIFA**	Środek do osadzania preparatu	8 ml	Zatwierdzony do użytku z HELMED® lub HELIOS® Z białym korkiem: bezbarwny roztwór. Zawiera: sól fizjologiczną buforowaną fosforanami, glicerynę.	TAK
51.100.Bulk5; 51.101.Bulk5; 51.180.Bulk5; 51.181.Bulk5	3x	**MMIFA.BULK**	Środek do osadzania preparatu	12 ml		
51.100; 51.101; 51.180; 51.181	1x	**WBIFA**	Bufor do płukania (10x)	100 ml	Z białym korkiem: bezbarwny roztwór. Rozcieńczyć stężony bufor w stosunku 1:10 wodą destylowaną (np. 100 ml + 900 ml). Zawiera: sól fizjologiczną buforowaną fosforanami, azydek sodu (środek konserwujący).	NIE
51.100.Bulk5; 51.101.Bulk5; 51.180.Bulk5; 51.181.Bulk5	3x					
51.100; 51.101	1x	**SBIFA**	Bufor próbki (1x)	70 ml	Z białym korkiem: bezbarwny roztwór do rozcieńczania surowic pacjentów. Zawiera: sól fizjologiczną buforowaną fosforanami, BSA, azydek sodu (środek konserwujący).	TAK
51.100.Bulk5; 51.101.Bulk5	3x					
51.180; 51.181	1x			100 ml		
51.180.Bulk5; 51.181.Bulk5	3x					

Ilości podane są dla zestawu. (*) należy zamówić osobno.

8.2. Materiały wymagane, ale niedołączone

1. Woda destylowana
2. Probówki do rozcieńczania próbek
3. Kolba pomiarowa
4. Pipeta wolumetryczna
5. Minutnik
6. Mikroskop fluorescencyjny z systemem FITC (filtr wzbudzenia 490 nm, filtr barierowy 510 nm)
7. Tacka inkubatora
8. Naczynie do barwienia
9. Końcówki pipet
10. Szkiełka nakrywkowe (24 x 60 mm)
11. Butelka tryskawka do mycia

Jeśli informacje o produkcie, w tym etykieta, są wadliwe lub nieprawidłowe, należy skontaktować się z producentem lub dostawcą zestawu testowego.

9. PRZECHOWYWANIE I OKRES TRWAŁOŚCI

Wszystkie odczynniki należy przechowywać w temperaturze 2–8 °C/35,6–46,4 °F, chroniąc przed bezpośrednim działaniem światła. Data ważności każdego składnika jest podana na odpowiedniej etykiecie. Nie należy używać odczynników po upływie terminu ważności.

Przechowywać wszystkie odczynniki i szkiełka w temperaturze 2–8 °C/35,6–46,4 °F w oryginalnych pojemnikach. Po przygotowaniu rekonstytuowane roztwory zachowują stabilność przez co najmniej jeden tydzień w temperaturze 2–8 °C/35,6–46,4 °F.

Odczynniki i szkiełka należy zużyć w terminie ważności wskazanym na każdym elemencie.

10. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI DOTYCZĄCE STOSOWANIA

c. Dane dotyczące zagrożeń dla zdrowia

PRODUKT JEST PRZEZNACZONY WYŁĄCZNIE DO DIAGNOSTYKI IN VITRO. W związku z tym test przy użyciu tego zestawu może wykonać tylko wykwalifikowany personel specjalnie przeszkolony w zakresie metod diagnostyki in vitro. Chociaż ten produkt nie jest uważany za szczególnie toksyczny ani niebezpieczny w warunkach użytkowania zgodnie z przeznaczeniem, w celu zapewnienia maksymalnego bezpieczeństwa należy zapoznać się z poniższymi informacjami:

Zalecenia i środki ostrożności

Ten zestaw zawiera potencjalnie niebezpieczne elementy. Chociaż odczynniki zestawu nie są sklasyfikowane jako drażniące dla oczu i skóry, zalecamy unikanie kontaktu z oczami i skórą oraz noszenie jednorazowych rękawiczek.

Cały ludzki materiał źródłowy (kontrole itp.) użyty w niektórych odczynnikach tego zestawu został przetestowany zatwierdzonymi metodami i okazał się ujemny pod kątem HbsAg, wirusowego zapalenia wątroby typu C i HIV. Żaden test nie może jednak zagwarantować całkowitej nieobecności czynników wirusowych w takim materiale. W związku z tym należy obchodzić się z kontrolami zestawu i próbkami pacjentów tak, jakby były zakaźne, zgodnie z wymogami krajowymi.

Zestaw zawiera materiał pochodzenia zwierzęcego (BSA, immunoglobuliny), jak określono w spisie zawartości, postępować zgodnie z wymogami krajowymi.

d. Ogólne wskazówki dotyczące użytkowania

1. Nie pipetować ustami. Podczas manipulowania zestawem nie wolno palić tytoniu, jeść ani pić.
2. Nie mieszać ani nie zastępować odczynników o różnych numerach partii; może to prowadzić do różnic w wynikach.
3. Po użyciu wszystkie kolby powinny zostać szczelnie zamknięte, aby uniknąć zanieczyszczenia bakteriami.
4. Wszystkie roztwory należy zawsze pipetować przy użyciu nowych, sterylnych końcówek do pipetowania.
5. Nigdy nie wystawiać elementów na działanie temperatur wyższych niż 37 °C/98,6 °F (z wyjątkiem MMIFA).
6. Podczas całej procedury nie wolno dopuścić do wyschnięcia studzienek na szkiełkach.
7. Nigdy nie zamrażać szkiełek.

Każde laboratorium powinno ustalić swoje metody kontroli w oparciu o własne techniki, kontrole, sprzęt i populację pacjentów, zgodnie z własnymi ustalonymi procedurami.

Jednoznaczna diagnoza kliniczna nie powinna opierać się wyłącznie na wynikach wykonanego testu, ale powinna być postawiona przez lekarza po ocenie wszystkich wyników klinicznych i laboratoryjnych.

Jeśli wartości dla kontroli nie spełniają kryteriów, wynik jest nieważny i test należy powtórzyć. Należy sprawdzić następujące kwestie techniczne: daty ważności (przygotowanych) odczynników, warunki przechowywania, pipety, urządzenia, fotometr, warunki inkubacji i metody płukania. Jeśli dla testowanych elementów wykazano nieprawidłowe wartości lub odchylenia lub jeśli kryteria walidacji nie są spełnione z niewyjaśnionych powodów, należy skontaktować się z producentem lub dostawcą zestawu testowego.

11. POBIERANIE PRÓBEK, POSTĘPOWANIE Z NIMI I ICH PRZECHOWYWANIE

Przygotowanie próbek: najlepiej używać świeżo pobranych próbek surowicy. Krew należy pobrać zgodnie z wymogami krajowymi. Próbki krwi pobierać w sposób aseptyczny.

Próbki lipemiczne, żółtaczkowe, zhemolizowane lub skażone mikrobiologicznie mogą powodować zakłócenia.

Surowice zawierające cząstki należy oczyścić przez wirowanie z niską prędkością (<1000 x g). Próbki krwi należy pobierać do czystych, suchych i pustych probówek. Po oddzieleniu próbki surowicy należy zużyć w ciągu pierwszych 8 godzin lub przechowywać szczelnie zamknięte w temperaturze 2–8 °C/35,6–46,4 °F do 2 tygodnie bądź zamrożone w temperaturze -20 °C/-4 °F przez dłuższy czas. Unikać wielokrotnego mrożenia i rozmrażania.

12. PROCEDURA OZNACZENIA

e. Przygotowanie przed pipetowaniem

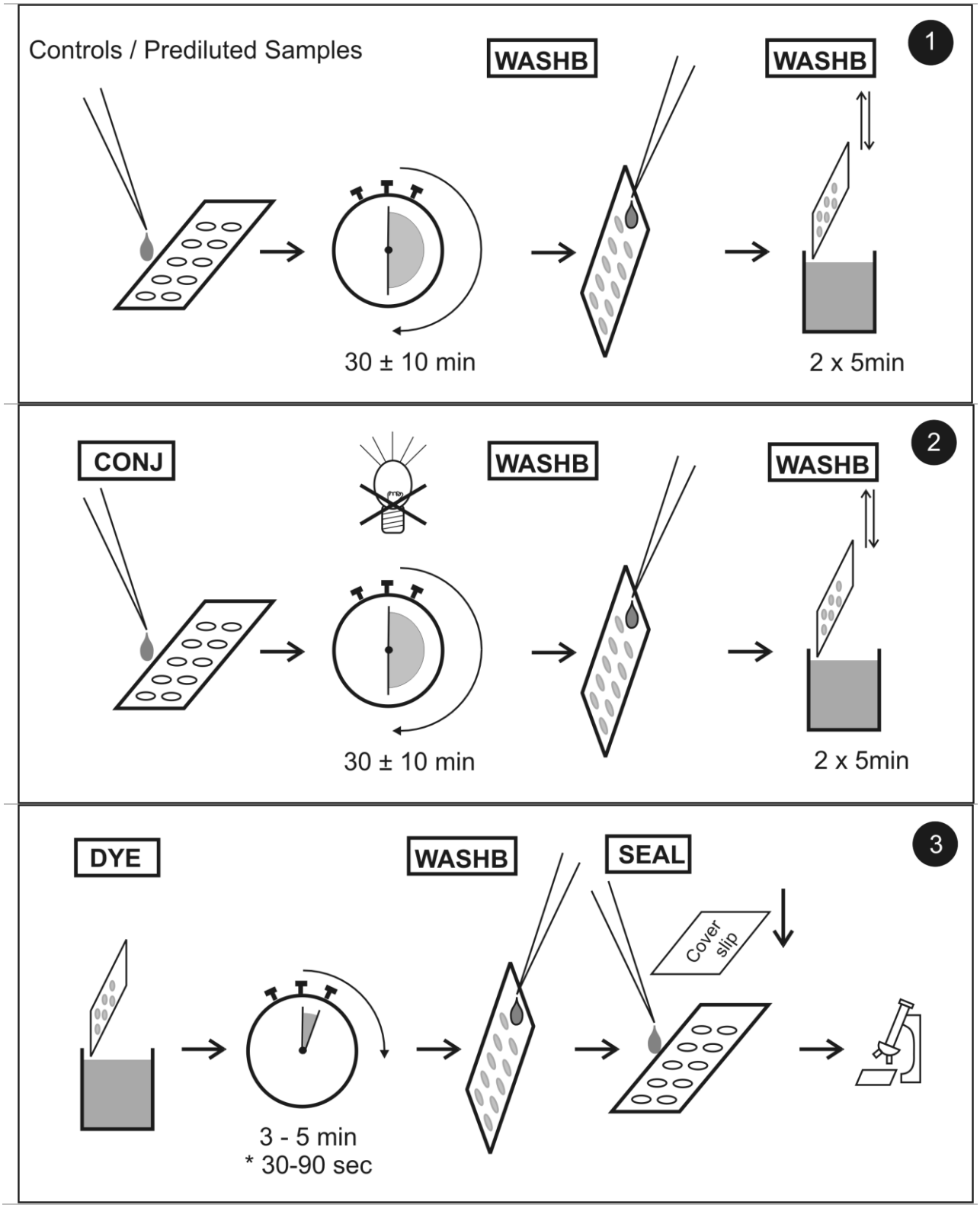
Odczekać przed użyciem, aż wszystkie elementy osiągną temperaturę pokojową (20–26 °C/68–78,8 °F), dobrze wymieszać i postępować zgodnie z zalecanym schematem inkubacji w celu optymalnego przeprowadzenia testu.

1. Przygotowanie buforu do płukania: rozcieńczyć stężony bufor w stosunku 1:10 wodą destylowaną.
2. Rozcieńczanie próbek: rozcieńczyć surowicę pacjenta (w celu określenia miana przesiewowego, patrz punkt ***Procedura dla zestawu testowego*** powyżej, zgodnie z numerem katalogowym używanego produktu) za pomocą 1x buforu próbki. Różnią się one między zestawami HEp-2, nDNA, rLKS, EMA itp.
3. Kontrole są gotowe do użycia.
4. Przygotować protokół: szczegółowe informacje na temat czasu inkubacji znajdują się w punkcie ***Procedura dla zestawu testowego*** powyżej, zgodnie z numerem katalogowym używanego produktu.
5. W przypadku zwiększonej lepkości lub nieprzezroczystości przed użyciem środek do osadzania preparatu (MMIFA) podgrzać w kąpieli wodnej przez 15 minut w temperaturze 56 °C/132,8 °F, a następnie pozostawić do osiągnięcia temperatury pokojowej (20–26 °C/68–78,8 °F). Po tej procedurze podgrzany odczynnik może być używany przez maksymalnie 21 kolejnych dni, pod warunkiem, że jest przechowywany w temperaturze 2–8 °C/35,6–46,4 °F, jak określono na etykiecie odczynnika i w instrukcji użycia.

f. Procedura testu

Nr	Opis kroku
1.	Wyjąć niezbędne szkiełka z torebek i oznaczyć je. Nie dotykać studzienek. Nie dopuścić do wyschnięcia szkiełek.
2.	**Przygotowanie tacki inkubatora**: Umieścić niewielką ilość wody dejonizowanej lub destylowanej na tacce inkubatora i umieścić szkiełka na wspornikach na tacce inkubatora. Inkubować szkiełka przez 30 minut ± 10 minut w temperaturze pokojowej na wilgotnej tacce inkubatora. Stosować spójne czasy inkubacji dla koniugatu. **Pierwsza inkubacja**: Odmierzyć pipetą odpowiednią objętość każdej rozcieńczonej surowicy i kontroli (gotowych do użycia) do odpowiednich studzienek; unikać bezpośredniego kontaktu pipety z powierzchnią szkiełka. Upewnić się, że każda studzienka jest całkowicie pokryta odpowiednią surowicą. Istotne jest, aby użyć tyle materiału testowego, ile potrzeba do całkowitego pokrycia studzienek. Należy jednak unikać rozlewania się materiału na sąsiednie studzienki, ponieważ może to prowadzić do nieprawidłowych wyników.
3.	**Płukanie**: Po inkubacji wyjąć szkiełka z tacki inkubatora i krótko przepłukać buforem do płukania za pomocą butelki tryskawki do płukania. Nie rozpylać buforu bezpośrednio na studzienki. UWAGA: Aby zapobiec zanieczyszczeniu krzyżowemu, przechylić szkiełko najpierw w kierunku jednego rzędu i ostrożnie przeprowadzić strumień buforu do płukania wzdłuż linii środkowej szkiełka, tak aby bufor spłynął z dolnej krawędzi szkiełka. Następnie przechylić szkiełko w kierunku drugiego rzędu i powtórzyć tę procedurę, tak aby bufor do płukania spłynął z dolnej krawędzi szkiełka. Płukać szkiełka przez 10 minut buforem do płukania w naczyniu do barwienia szkiełek. Unikać bezpośredniego kontaktu elementów stałych z substratem. Aby uzyskać optymalne wyniki, zmienić roztwór buforu raz po 5 minutach. Wyjąć szkiełka z naczynia do barwienia i ostrożnie usunąć nadmiar buforu do płukania. UWAGA: Istotne jest, aby studzienki na szkiełka nie wyschły podczas procedury, ponieważ może to spowodować uszkodzenie substratu. Nie należy osuszać szkiełka w żaden sposób ani pozostawiać go bez odczynnika przeciwciała fluorescencyjnego na dłużej niż kilka sekund.
4.	**Druga inkubacja**: Po zakończeniu procedury płukania natychmiast umieścić szkiełko z powrotem na tacce inkubatora, pokryć każdą studzienkę odpowiednią objętością koniugatu FITC i upewnić się, że studzienki są całkowicie pokryte. Inkubować szkiełka przez 30 minut ± 10 minut w temperaturze pokojowej w ciemności.
5.	**Płukanie**: Po inkubacji wyjąć szkiełka z tacki inkubatora i krótko przepłukać buforem do płukania za pomocą butelki tryskawki do płukania. Nie rozpylać buforu bezpośrednio na studzienki. Płukać szkiełka przez 10 minut buforem do płukania w naczyniu do barwienia szkiełek. Aby uzyskać optymalne wyniki, zmienić roztwór buforu raz po 5 minutach.
6.	***Opcjonalne barwienie kontrastowe**: Rozcieńczyć barwnik kontrastowy (błękit Evansa) w stosunku 1:3000 buforem do płukania i dobrze wymieszać. Przechylić naczynie z barwnikiem kontrastowym nad naczyniem do barwienia i inkubować w nim szkiełka. Szczegółowe informacje na temat czasu inkubacji znajdują się w punkcie ***Procedura dla zestawu testowego*** powyżej, zgodnie z numerem katalogowym używanego produktu. Błękit Evansa obejmuje niespecyficzną fluorescencję tła. Po inkubacji wyjąć szkiełka i krótko przepłukać buforem do płukania. Usunąć nadmiar buforu do płukania. Nie osuszać szkiełka w żaden sposób.
7.	**Środek do osadzania preparatu**: Dodać odpowiednią objętość środka do osadzania preparatu wzdłuż linii środkowej każdego szkiełka. Ostrożnie umieścić szkiełko nakrywkowe na miejscu, unikając pozostawienia pęcherzyków powietrza.
8.	**Odczyt**: Natychmiast obejrzeć szkiełka pod mikroskopem fluorescencyjnym przy całkowitym powiększeniu 400–800 x (filtr wzbudzenia 490 nm, filtr barierowy 510 nm).

g. Przebieg czynności



13. ROZWIĄZYWANIE PROBLEMÓW

BŁĄD	MOŻLIWE PRZYCZYNY	ROZWIĄZANIE
Niska gęstość komórek	• Liza komórek po dłuższym kontakcie z wodą dejonizowaną. • Bufor rozpylany bezpośrednio na substrat w studzience.	Postępować zgodnie z zalecaną procedurą płukania.
	Enzymy proteolityczne zaatakowały substrat.	Dezaktywować surowicę.
Nierównomierna fluorescencja	Surowica wyschła w studzience, fluorescencja silniejsza na krawędzi.	Zawsze inkubować w wilgotnym środowisku.
	Surowica nie pokrywa dobrze studzienki testowej.	Nałożyć odpowiednią ilość materiału testowego.
	Reakcja krzyżowa między studzienkami.	Unikać przelewania materiału między studzienkami przy pierwszej inkubacji.
	Zaznaczenie szkiełka kredką woskową tworzy na nim błonę.	Użyć zwykłego ołówka (nie woskowej kredki).
	Nieprawidłowo wyregulowany mikroskop.	Sprawdzić ustawienia lampy UV.
Obraz rozproszony	Szkiełko inkubowane w chłodziarce bez szkiełka nakrywkowego.	Uszczelnić szkiełko lakierem do paznokci lub woskiem parafinowym.
	Immunofluorescencja. Mikroskop jest brudny. Możliwe zadrapania na obiektywie.	Wyczyścić mikroskop zgodnie z instrukcją.
Niska fluorescencja lub jej brak	Koniugat i szkiełka rozmrożone i zamrożone ponownie.	Koniugat i szkiełka przechowywane w temperaturze 2–8 °C/35,6–46,4 °F.
	Kontrole rozcieńczone.	Sprawdzić instrukcje, użyć gotowego do użycia zestawu kontroli.
	• Skażenie bakteriami surowic lub koniugatu. • Mikroskop nie został wyregulowany. • Zbyt niska wartość pH buforu do płukania (wartość pH 7,4 ± 0,2).	Sprawdzić warunki.
	Koniugat FITC wystawiony na działanie światła	Przechowywać koniugat, chroniąc przed światłem
Fluorescencja tła	• Nieprawidłowo wypłukane. • Szkiełko wyschło. • Surowice lipemiczne, hemolityczne. • Błąd mikroskopu.	• Sprawdzić instrukcje płukania. • Nie dopuścić do wyschnięcia szkiełka. • Stosować wyłącznie świeżą surowicę. • Sprawdzić, czy filtr/obiektyw jest prawidłowy.

14. SYMBOLE REGULACYJNE

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	- For in vitro diagnostic use
REF	- Numero d'ordine	- Cataloge number
	- Référence Catalogue	- Numéro de catálogo
	- Katalognummer	- Αριθμός παραγγελίας
	- Número de catálogo	- Cataloge number
LOT	- Descrizione lotto	- Lot
	- Lot	- Lote
	- Chargen Bezeichnung	- Χαρακτηρισμός παρτίδας
	- Lote	- Lot
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	- Unique device identifier
CE	- Conformità europea	- EC Declaration of Conformity
	- Déclaration CE de Conformité	- Declaración CE de Conformidad
	- Europäische Konformität	- Ευρωπαϊκή συμφωνία
	- Declaração CE de conformidade	- EC Declaration of Conformity
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	- See electronical instructions for use
	- Da utilizzarsi entro	- Use by
	- Utilise avant le	- Utilizar antes de
	- Verwendbar bis	- Χρήση μέχρι
	- Utilizar antes de	- Use by
+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)	- Store at 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Prodotto da	- Manufactured by
	- Fabriqué par	- Fabricado por
	- Hergestellt von	- Κατασκευάζεται από
	- Fabricado por	- Manufactured by
DYE	- Colorante Blue-Evans	- Evans-Blue Dye
	- coloration au Bleu Evans	- Colorante Azul de Evans
	- Evans-Blue Färbelösung	- Evans Blue
	- Evans Blue	- Evans-Blue Dye
CONTROL +	- Controllo positivo	- Positive Control
	- Contrôle Positif	- Control Positivo
	- Positiv Kontrolle	- Θετικός ορός ελέγχου
	- Controlo positivo	- Positive Control
CONTROL −	- Controllo negativo	- Negative Control
	- Contrôle Négatif	- Control Negativo
	- Negativ Kontrolle	- Αρνητικός ορός ελέγχου
	- Controlo negativo	- Negative Control
SEAL	- Mezzi di montaggio	- Mounting media
	- milieu de montage	- Medio de montaje
	- Mounting Medium	- Μέσο μονιμοποίησης
	- Meio de montagem	- Mounting media
CONJ	- Coniugato	- Conjugate
	- Conjugé	- Conjugado
	- Konjugat	- Σύζευγμα
	- Conjugado	- Conjugate
	- Vetrino per microscopio	- Microscope slide
	- lame de microscope	- Portaobjetos
	- Objektträger	- Αντικειμενοφόρο πλακίδιο
	- Lâmina	- Microscope slide
WASHB 10x	- Tampone di lavaggio	- Wash Buffer
	- Tampon de Lavage	- Solución de lavado
	- Waschpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	- Solucão de lavagem	- Wash Buffer
SB 1x	- Tampone di campione	- Sample Buffer
	- Tampon de Echantillons	- Solución de muestras
	- Probenpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	- Solução para amostras	- Sample Buffer

	- Numero di determinazioni	- Number of determinations
	- Nombre de déterminations	- Número de determinaciones
	- Anzahl der Prüfungen	- Αριθμός προσδιορισμών
	- Número de determinações	– Liczba oznaczeń
	- Non riutilizzare	- Do not reuse
	- Ne pas réutiliser	- No reutilizar
	- Nicht wiederverwenden	- Μην επαναχρησιμοποιείτε
	- Não reutilizar	– Nie używać ponownie
	- 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	– Chronić przed światłem
	- Conservare all'asciutto	- Store dry
	- Stocker au sec	- Almacenar en seco
	- Trocken aufbewahren	- Αποθηκεύστε ξηρά
	- Armazenar em local seco	– Przechowywać w suchym miejscu
	- 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	– Nie używać, jeśli opakowanie jest uszkodzone i zapoznać się z instrukcją obsługi