AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



# AESKUSLIDES®

*THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS*

## NÁVOD K
# POUŽITÍ

***AESKUSLIDES® nDNA***

***Ref 53.100***

CE

AESKUSLIDES®
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



eIFU
WWW.AESKU.COM

# NÁVOD K POUŽITÍ

## nDNA (*Crithidia luciliae*)

| Označení | Popis | Testy |
|---|---|---|
| **53.100** | **nDNA** (10 jamek) | 100 |


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

# Obsah

1. ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ 1
2. KLINICKÉ POUŽITÍ 1
3. POSTUP POUŽITÍ SOUPRAVY 2
4. INTERPRETACE 2
5. SPECIFICKÉ CHARAKTERISTIKY FUNKCE 3
5.1. Citlivost/specifičnost 3
a. Tabulka 1: Intervaly spolehlivosti kombinovaného souboru dat 3
5.2. Reprodukovatelnost a přesnost 3
6. LIST INTERPRETACE DAT 4
7. OBSAH STANDARDNÍ SOUPRAVY 5
8. BĚŽNÉ REAGENCIE 6
b. Běžné reagencie 6
c. Nezbytné materiály, které nejsou součástí balení 6
9. SKLADOVÁNÍ A DOBA POUŽITELNOSTI 7
10. BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ PŘI POUŽÍVÁNÍ 7
d. Údaje týkající se zdravotních rizik 7
e. Obecné pokyny k použití 7
11. ODBĚR VZORKŮ, MANIPULACE S NIMI A JEJICH SKLADOVÁNÍ 8
12. POSTUP TESTU 8
f. Příprava před pipetováním 8
g. Provedení testu 9
h. Pracovní postup 10
13. ŘEŠENÍ POTÍŽÍ 11
14. PŘEDEPSANÉ SYMBOLY 12

# nDNA (*Crithidia luciliae*)

## 1. ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ

***AESKUSLIDES*® nDNA (*Crithidia luciliae*)** je nepřímý imunofluorescenční test k detekci IgG protilátek proti nativní dvoušroubovici DNA v lidském séru.

Testovací sada je určena pouze pro profesionální použití v laboratořích.

## 2. KLINICKÉ POUŽITÍ

Protilátky vázající se na DNA patří ke skupině antinukleárních protilátek (ANA), které byly pozorovány u několika autoimunitních onemocnění. Protilátky reagující s nativní dvouvláknovou (ds) DNA jsou považovány za specifické pro systémový lupus erythematodes (SLE) a byly pozorovány přibližně u 50–80 % pacientů. Protilátky proti dsDNA byly nalezeny během aktivních fází SLE. Množství sérové koncentrace pozitivně koreluje se závažností onemocnění. Proto je detekce těchto protilátek důležitá k diagnostice a klinickému monitorování SLE. Následně byla stanovena jako 1 z 11 kritérií ACR pro SLE. Většina pacientů se SLE vykazuje protilátky proti dsDNA třídy IgG. Tyto protilátky jsou spojeny s lupusovou nefritidou. Přibližně u 30 % SLE pacientů se navíc rozvíjí protilátky proti dsDNA třídy IgA. Existují názory, že přítomnost těchto protilátek proti dsDNA třídy IgA může definovat určitou podskupinu pacientů. Ovšem studie prokázaly spojení této podtřídy s určitými parametry aktivity onemocnění, jako je např. zvýšená rychlost sedimentace erytrocytů nebo spotřeba složky komplementu C3, a také s klinickými parametry kožní vaskulitidy, akrální nekrózy a erytému. S nefritidou a artritidou se žádné spojení nezjistilo.

Protilátky proti dsDNA třídy IgM byly nalezeny v 52 % sér pacientů se SLE. Na rozdíl od protilátek třídy IgG a IgA nekorelují protilátky podtřídy IgM s aktivitou onemocnění. Byla však prokázána velmi významná negativní korelace mezi protilátkami IgM proti dsDNA a lupusovou nefritidou včetně jejích laboratorních parametrů. Z tohoto důvodu mohou protilátky proti dsDNA třídy IgM označovat podskupinu pacientů s lupusem, kteří jsou chráněni proti rozvoji nefritidy.

**Charakterizace antigenu:** mitochondriální DNA z *Crithidia luciliae* (monoflagelátní protozoa)

**Zkřížená reaktivita:** Zkřížené reaktivity nejsou známy.

Detekce protilátek je založena na principu nepřímého imunofluorescenčního testu (IIFA). Skleněná mikroskopická sklíčka jsou potažena řezy tkání nebo buňkami (HEp-2 buňky (ANA), granulocyty (ANCA) nebo *Crithidia luciliae* (nDNA)). Pokud sérum pacienta obsahuje specifické protilátky, navážou se na sklíčko během první inkubace. Po odstranění nevázaného materiálu promývacími kroky jsou během druhé inkubace navázané protilátky detekovány imunoglobuliny proti lidským antigenům konjugovanými s fluoresceinem. Specifické zelené fluorescenční barvení komplexu antigen-protilátka je možné pozorovat pomocí fluorescenčního mikroskopu.

## 3. POSTUP POUŽITÍ SOUPRAVY

Podrobné pokyny najdete v Postupu provedení testu uvedeném v Běžných pokynech, části 12. Při použití souprav nDNA dodržujte následující podrobné pokyny:

- Doba kontrastního barvení: 30-90 sekund
- Doporučený screeningový titr:
  - 1:10

## 4. INTERPRETACE

*Crithidia luciliae* obsahuje obrovskou mitochondrii, označovanou jako kinetoplast, která obsahuje pouze dsDNA.

V přítomnosti protilátek proti nDNA je viditelná homogenní fluorescence kinetoplastu nebo spíše jádra a kinetoplastu, který je umístěn mezi jádrem a bazálním tělískem v blízkosti bičíku.

Hodnocení se musí vždy provést s pozitivní nebo negativní kontrolou.

Vzorek musí být hodnocen jako nDNA negativní, pokud se fluorescence bazálního tělíska objeví pouze v blízkosti počátku bičíku nebo jádra a neexistují žádné specifické protilátky proti nDNA.

Příklady ředění:

| | | | |
|---|---|---|---|
| 1:10 | 10 µl séra | + | 90 µl pufru pro vzorky |
| 1:20 | 10 µl séra | + | 190 µl pufru pro vzorky |
| 1:40 | 10 µl séra | + | 390 µl pufru pro vzorky |
| 1:80 | 10 µl séra | + | 790 µl pufru pro vzorky |

atd.

Imunofluorescence vykazuje charakteristický vzor dvojitého bodu za přítomnosti protilátek proti dsDNA, zatímco jádro je fluorescentní při přítomnosti non-dsDNA nukleárních protilátek. (dsDNA je u SLE důležitým autoantigenem se specifičností 95 %).

U pacientů se SLE lze pozorovat protilátky proti široké škále jaderných antigenů. Nejsilnější korelace s tímto onemocněním se prokazuje protilátkami proti Sm (glykoprotein), které se objevují jako skvrnitý jaderný vzor u HEp-2 buněk, a protilátkami proti nDNA (periferní nebo homogenní vzor u HEp-2 buněk).

Protilátky proti nativní dvoušroubovici DNA jsou vysoce specifické pro SLE. Ačkoli nízké hladiny protilátek proti nDNA lze pozorovat i u dalších onemocnění, např. Sjögrenova syndromu, smíšeného onemocnění pojivové tkáně (MCTD) a dermatomyositidy, vysoké titry protilátek proti nDNA jsou detekovány téměř výlučně u SLE.[1]

[1] Storch WB; Immunfluoreszenz-Fibel 2nd Edition; Blackwell Wissenschaftsverlag 1997

# 5. SPECIFICKÉ CHARAKTERISTIKY FUNKCE

## 5.1. Citlivost/specifičnost

***AESKUSLIDES*® nDNA** byl porovnán s jiným komerčně dostupným nepřímým imunofluorescenčním testovacím systémem využívajícím *Crithidia luciliae*. 297 sér od pacientů se SLE a 479 sér od pacientů s jinými onemocněními („non-healthy controls“) bylo analyzováno ručně a vyhodnoceno na základě dvou čtení. Pro stanovení pozitivních vzorků byla použita mezní hodnota ředění 1:10. Klinické vzorky představovaly plné spektrum autoimunitních onemocnění.

Při porovnání jsme u testu ***AESKUSLIDES*® nDNA** získali následující výsledky:

### a. Tabulka 1: Intervaly spolehlivosti kombinovaného souboru dat

| | | Predikát | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Pozitivní | Negativní | Celkem |
| ***AESKUSLIDES*® nDNA** | Pozitivní | 79 | 14 | 93 |
| | Negativní | 108 | 575 | 683 |
| | Celkem | 187 | 589 | 776 |

Citlivost = 79/187 = 42,2 % (95% CI: 35,4–49,4 %)
Specifičnost = 575/589 = 97,6 % (95% CI: 96,1–98,6 %)

95% intervaly spolehlivosti jsou intervaly spolehlivosti podle Wilsonovy metody[2].

## 5.2. Reprodukovatelnost a přesnost

Za účelem prokázání reprodukovatelnosti ***AESKUSLIDES*® nDNA** byly provedeny vnitrolaboratorní a mezilaboratorní studie. V průběhu pěti dnů bylo pomocí testu ***AESKUSLIDES*® nDNA** vyšetřeno 11 vzorků séra, přičemž každý den byly na třech studijních pracovištích provedeny dva cykly a tři replikáty na cyklus. Soubor vzorků zahrnující negativní, nízce pozitivní, středně a vysoce pozitivní vzorky byl zpracován ručně a pomocí automatizovaného systému **HELIOS® Automated IFA System** vyhodnocen na základě dvou čtení. Pozitivní a negativní shody byly ≥ 90 %. Vzorky vykazovaly konzistentní intenzitu fluorescence ve všech testovaných jamkách.

[2] Wilson, E. B. (1927). Probable Inference, the Law of Succession, and Statistical Inference. Journal of the American Statistical Association, 22(158), 209–212. https://doi.org/10.2307/2276774

# 6. LIST INTERPRETACE DAT

## nDNA

| Datum: | Šarže: |
|---|---|
| Č. sklíčka: | Pracovník: |

| Č. jamky | ID | Faktor ředění | F.I. | Jádro | Kinetoplast | Bazální tělísko | Výsledky | poznámky |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | | | | | | | | |
| 2 | | | | | | | | |
| 3 | | | | | | | | |
| 4 | | | | | | | | |
| 5 | | | | | | | | |
| 6 | | | | | | | | |
| 7 | | | | | | | | |
| 8 | | | | | | | | |
| 9 | | | | | | | | |
| 10 | | | | | | | | |
| 11 | | | | | | | | |
| 12 | | | | | | | | |
| 13 | | | | | | | | |
| 14 | | | | | | | | |

## 7. OBSAH STANDARDNÍ SOUPRAVY

| | | SKLÍČKA | | | | KONJUGÁT | | | POZITIVNÍ KONTROLA | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Označení soupravy** | **Popis soupravy** | **Označení** | **Jamky** | **Potaženo** | **Množství** | **Označení** | **Popis** | **Množství** | **Označení** | **Popis** | **Množství** |
| **53.100** | **nDNA** (10 jamek) | **S53.100** | 10 | Buňky *Crithidia luciliae* | 10 x | **C53.100** | **IgG** s modrým víčkem: roztok zbarvený lehce do modra<br>Obsah: BSA, protilátka proti lidským antigenům značená fluoresceinem (FITC) | 1 x 5 ml | **PC53.100** | nDNA pozitivní kontrola<br>S červeným víčkem: bezbarvý roztok.<br>Obsah: lidské sérum (naředěné), azid sodný < 0,1 % (konzervační roztok). | 1 x 0,5 ml |
| **POZNÁMKA: Zbývající části souprav, tj. běžné reagencie (neg. kontrola, fixační médium atd.) jsou popsány níže v části 8 BĚŽNÉ REAGENCIE.** | | | | | | | | | | | |

# 8. BĚŽNÉ REAGENCIE

## b. Běžné reagencie

| Označení | Reagencie | Množství /objem | | Popis | Připravena k použití |
|---|---|---|---|---|---|
| **NCIFA** | Negativní kontrola | 1 x | 0,5 ml | Se zeleným víčkem: bezbarvý roztok. Obsah: lidské sérum (naředěné), azid sodný < 0,1 % (konzervační roztok). | ANO |
| *** EBIFA** | Evansova modř 0,2 % | 1 x | 1,5 ml | S bílým víčkem: modře zbarvený roztok. Obsah: PBS, Evansova modř. Nařeďte 0,2 % Evansovu modř v poměru 1:3000 v 1× WBIFA. | NE |
| **MMIFA** | Fixační médium | 1 x | 8 ml | Validováno k použití s HELMED® S bílým víčkem: bezbarvý roztok. Obsah: PBS, glycerin. | ANO |
| **WBIFA** | Promývací pufr (10×) | 1 x | 100 ml | S bílým víčkem: bezbarvý roztok. Nařeďte koncentrovaný pufr destilovanou vodou v poměru 1:10 (např.: 100 ml + 900 ml). Obsah: PBS, azid sodný (konzervační roztok). | NE |
| **SBIFA** | Pufr pro vzorky (1×) | 1 x | 70 ml | S bílým víčkem: bezbarvý roztok. K ředění séra pacienta. Obsah: BSA, PBS, azid sodný (konzervační roztok). | ANO |

Množství jsou uvedena na soupravu. (*) musí se objednat samostatně.

## c. Nezbytné materiály, které nejsou součástí balení

1. Destilovaná voda
2. Zkumavky k ředění vzorku
3. Odměrná baňka
4. Odměrná pipeta
5. Stopky
6. Fluorescenční mikroskop se systémem FITC (excitační filtr – 490 nm, bariérový filtr – 510 nm)
7. Inkubátor
8. Miska na barvení
9. Pipetovací špičky
10. Krycí sklíčka (24 × 60 mm)
11. Střička

**Pokud jsou informace o výrobku, včetně značení, chybné nebo nesprávné, kontaktujte výrobce nebo dodavatele testovací soupravy.**

# 9. SKLADOVÁNÍ A DOBA POUŽITELNOSTI

Všechny reagencie skladujte při teplotě 2-8 °C / 35,6-46,4 °F chráněné před intenzivním světlem. Datum expirace každé části je uvedeno na příslušném štítku. Po uplynutí data expirace reagencie nepoužívejte. Všechny reagencie a sklíčka skladujte při teplotě 2-8 °C / 35,6-46,4 °F v jejich původních obalech. Jakmile jsou rekonstituované roztoky připravené, jsou stabilní po dobu minimálně 1 týdne při teplotě 2-8 °C / 35,6-46,4 °F. **Reagencie a sklíčka se mohou používat pouze do data expirace uvedeného na každé části.**

# 10. BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ PŘI POUŽÍVÁNÍ

## d. Údaje týkající se zdravotních rizik

**TENTO VÝROBEK JE URČEN POUZE K DIAGNOSTICKÉMU POUŽITÍ IN VITRO**. Proto mohou soupravu používat pouze pracovníci speciálně vyškolení v metodách in vitro diagnostiky. Ačkoli se výrobek nepovažuje za zvlášť toxický ani nebezpečný v podmínkách zamýšleného použití, k zachování maximální bezpečnosti postupujte podle následujících doporučení:

**Doporučení a bezpečnostní opatření**

Tato souprava obsahuje potenciálně nebezpečné části. Ačkoli nejsou reagencie soupravy klasifikovány jako dráždivé na oči a kůži, doporučujeme nosit jednorázové rukavice a vyhnout se kontaktu s očima a kůží.

Veškerý materiál lidského původu použitý pro některé reagencie této soupravy (např. kontroly) byl testován schválenými metodami a shledán negativním na HBsAg, hepatitidu C a HIV. Žádný test však nemůže zcela zaručit nepřítomnost virových agens v tomto materiálu. S kontrolami souprav a vzorky pacientů proto zacházejte v souladu se státními požadavky, a jako kdyby mohly přenášet infekční onemocnění. Souprava obsahuje materiál zvířecího původu (BSA, imunoglobulin), jak je uvedeno v obsahu. Zacházejte s ní v souladu se státními požadavky.

## e. Obecné pokyny k použití

1. Nepipetujte ústy. Při manipulaci se soupravou nekuřte, nejezte ani nepijte.
2. Nemíchejte reagencie s reagenciemi s odlišným číslem šarže ani je jimi nenahrazujte. Mohlo by to vést k odchylkám ve výsledcích.
3. Po použití uchovávejte všechny baňky zavřené, aby nedošlo k bakteriální kontaminaci.
4. Všechny roztoky vždy pipetujte pomocí nových sterilních pipetovacích špiček.
5. Části nikdy nevystavujte vyšším teplotám než 37 °C / 98,6 °F (kromě MMIFA).
6. Během celé doby postupu dávejte vždy pozor, aby jamky sklíčka nevyschly.
7. Sklíčka nikdy nevystavujte mrazu.

**Každá laboratoř si musí stanovit vlastní interní kontroly pro vlastní techniky, kontroly, vybavení a populaci pacientů podle zavedených postupů.**

**Konkrétní klinická diagnóza nesmí být založena pouze na výsledcích provedeného testu. Musí být stanovena lékařem po zhodnocení všech klinických a laboratorních nálezů.**

Pokud hodnoty kontrol nesplňují kritéria, test je neplatný a musí se opakovat. Je třeba zkontrolovat následující technické záležitosti: Data expirace (připravených) reagencií, skladovací podmínky, pipety, prostředky, fotometr, inkubační podmínky a způsoby promývání. Pokud testované položky vykazují abnormální hodnoty či jakýkoli druh odchylky nebo pokud nejsou bez opodstatněného důvodu splněna kritéria validace, kontaktujte místního zástupce.

# 11. ODBĚR VZORKŮ, MANIPULACE S NIMI A JEJICH SKLADOVÁNÍ

**Příprava vzorků**: Ideální je používat čerstvě odebrané vzorky séra. Odběr krve se musí provést podle státních požadavků. Vzorky krve odeberte asepticky.

Lipemické, ikterické, hemolyzované nebo mikrobiálně kontaminované vzorky mohou způsobit interferenci.

Séra s částicemi se musí vyčistit odstředěním nízkou rychlostí (< 1000 x g). Vzorky krve se musí odebírat do čistých, suchých a prázdných zkumavek. Po separaci se vzorky séra musí použít během prvních 8 hodin, respektive jsou-li pevně uzavřené, je možné je skladovat až 2 týdny při teplotě 2–8 °C / 35,6–46,4 °F nebo zmrazené při teplotě −20 °C / −4 °F po delší dobu. Vzorky opakovaně nezmrazujte a nerozmrazujte.

# 12. POSTUP TESTU

## f. Příprava před pipetováním

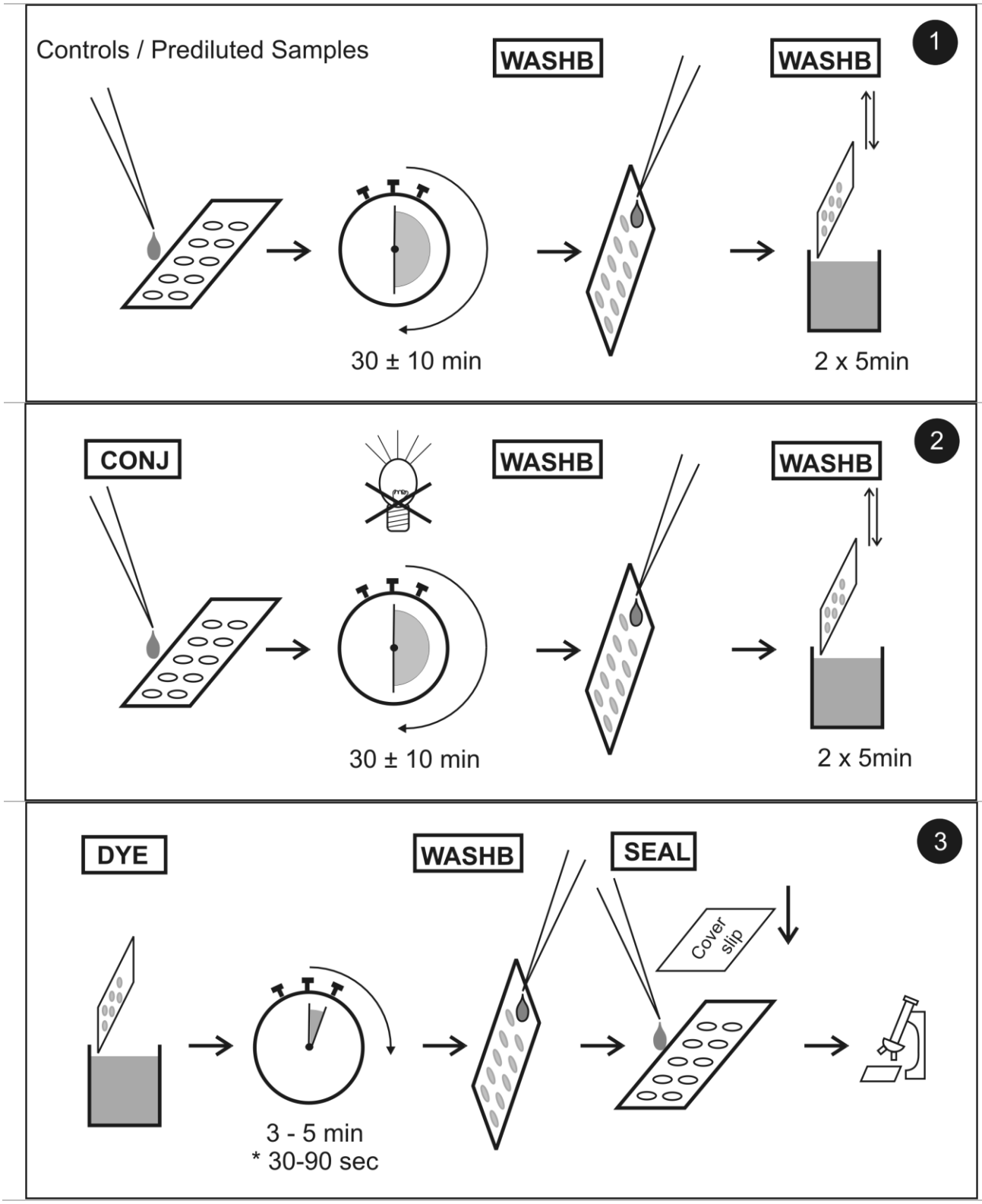
Pokud chcete dosáhnout optimální výkonnosti testu, nechte před použitím všechny části dosáhnout pokojové teploty (20–26 °C / 64–78,8 °F), dobře zamíchejte a postupujte podle doporučeného schématu inkubace.

1. Příprava promývacího pufru: Nařeďte koncentrovaný pufr destilovanou vodou v poměru 1 : 10.
2. Ředění vzorků: Nařeďte séra pacienta (screeningový titr viz část ***Postup použití soupravy*** v souladu s označením výrobku, který používáte) pomocí pufru pro vzorky (1×). U souprav HEp-2, nDNA, rLKS, EMA atd. mohou být titry odlišné.
3. Kontroly jsou připraveny k použití.
4. Připravte protokol: Listy interpretace dat jsou k dispozici v části ***Postup použití soupravy*** podle označení výrobku, který používáte.
5. V případě zvýšené viskozity a/nebo neprůhlednosti je třeba reagencii fixačního média (MMIFA) před použitím zahřát na 15 minut ve vodní lázni při teplotě 56 °C / 132,8 °F a poté počkat, až dosáhne pokojové teploty (20–26 °C / 68–78,8 °F). Po tomto postupu lze zahřátou reagencii používat až 21 po sobě jdoucích dnů, a to za předpokladu, že je skladována při teplotě 2-8 °C / 35,6-46,4 °F, jak je uvedeno na štítku reagencie a v návodu k použití.

## g. Provedení testu

| Č. | Popis kroku |
|---|---|
| 1. | Vytáhněte požadovaná sklíčka z obalu a označte je. Nedotýkejte se jamek. Nenechte sklíčka vyschnout. |
| 2. | **Příprava inkubátoru**: Do inkubátoru umístěte malý objem deionizované nebo destilované vody a vložte sklíčka na podpěry inkubátoru.<br>Sklíčka inkubujte při pokojové teplotě ve vlhkém inkubátoru 30 minut ± 10 minut. U konjugátu použijte stejné inkubační doby.<br>**První inkubace**: Do příslušných jamek napipetujte přiměřený objem každého naředěného séra a kontrol (připraveny k použití). Pipetou se během toho přímo nedotýkejte povrchu sklíčka.<br>Zkontrolujte, zda je každá jamka úplně zakrytá odpovídajícím sérem. Je důležité použít tolik testovaného materiálu, kolik je potřeba k úplnému zakrytí jamky. Dbejte však na to, aby kapalina mezi jamkami neproudila. Mohlo by to vést k nesprávným výsledkům. |
| 3. | **Promytí**: Po inkubaci vytáhněte sklíčka z inkubátoru a pomocí střičky proveďte krátké opláchnutí promývacím pufrem. Nestříkejte pufr přímo na jamky.<br>POZNÁMKA: Aby nedošlo ke zkřížené kontaminaci nakloňte sklíčko nejprve směrem k jedné řadě, opatrně nechte promývací pufr téct podél středu sklíčka a odtéct dolním okrajem sklíčka. Poté nakloňte sklíčko směrem k další řadě a postup opakujte. Nechte promývací pufr odtéct v místě, kde se nyní nachází dolní okraj sklíčka. Sklíčka omývejte 10 minut promývacím pufrem v misce na barvení sklíček. Dávejte pozor, aby nedošlo k přímému kontaktu pevných částí a substrátu. Pokud chcete docílit optimálních výsledků, pufrovací roztok jednou za 5 minut vyměňte.<br>Vytáhněte sklíčka z misky na barvení a opatrně odstraňte přebytečný promývací pufr.<br>POZNÁMKA: Je důležité, abyste nenechali jamky sklíčka během postupu vyschnout. Mohlo by to poškodit substrát. Žádným způsobem sklíčko neodsávejte a nesušte ani ho nenechávejte ustát bez reagencie fluorescenční protilátky déle než několik sekund. |
| 4. | **Druhá inkubace**: Po postupu promytí vraťte sklíčko ihned do inkubátoru, zakryjte každou jamku odpovídajícím množstvím konjugátu FITC a zkontrolujte, zda jsou jamky úplně zakryté. Sklíčka inkubujte při pokojové teplotě v temnu 30 minut ± 10 minut. |
| 5. | **Promytí**: Po inkubaci vytáhněte sklíčka z inkubátoru a pomocí střičky proveďte krátké opláchnutí promývacím pufrem. Nestříkejte pufr přímo na jamky. Sklíčka omývejte 10 minut promývacím pufrem v misce na barvení sklíček. Pokud chcete docílit optimálních výsledků, pufrovací roztok jednou za 5 minut vyměňte. |
| 6. | *** Volitelné kontrastní barvení**: Nařeďte kontrastní barvivo (Evansova modř) promývacím pufrem v poměru 1:3000 a dobře promíchejte. Kontrastní barvení vylijte do misky na barvení a inkubujte v ní sklíčka. Konkrétní inkubační dobu najdete v části ***Postup použití soupravy*** podle označení výrobku, který používáte. Evansova modř pokryje nespecifickou fluorescenci pozadí.<br>Po uplynutí inkubační doby sklíčka vyjměte a krátce je opláchněte promývacím roztokem. Odstraňte přebytečný promývací roztok. Žádným způsobem sklíčko neodsávejte ani nesušte. |
| 7. | **Fixační médium**: Přidejte dostatečné množství fixačního média podél středu každého sklíčka. Krycí sklíčko umisťujte opatrně, aby nedošlo ke vzniku vzduchových bublin. |
| 8. | **Čtení**: Sklíčka prohlédněte ihned při celkovém 400–800násobném zvětšení pomocí fluorescenčního mikroskopu (excitační filtr – 490 nm, bariérový filtr – 510 nm). |

## h. Pracovní postup



## 13. ŘEŠENÍ POTÍŽÍ

| CHYBA | MOŽNÉ PŘÍČINY | ŘEŠENÍ |
|---|---|---|
| Nízká hustota buněk | • Lýza buněk po dlouhotrvajícím kontaktu s deionizovanou vodou.<br>• Pufr byl nastříkán přímo na substrát v jamce. | Postupujte podle doporučeného promývacího postupu. |
| | Proteolytické enzymy napadly substrát. | Inaktivní sérum. |
| Nerovnoměrná fluorescence | Sérum je zaschlé v jamkách, fluorescence je silnější na okraji. | Vždy inkubujte ve vlhkém prostředí. |
| | Sérum nezakrývá testovací jamku. | Použijte dostatečný objem testovaného materiálu. |
| | Zkřížená reakce mezi jamkami. | Při první inkubaci dejte pozor, aby nedošlo k proudění kapaliny mezi jamkami. |
| | Označení sklíčka voskovou tužkou vytváří na sklíčku film. | Použijte obyčejnou (nevoskovou) tužku. |
| | Mikroskop není správně nastavený. | Zkontrolujte nastavení UV lampy. |
| Difuzní obraz | Sklíčko bylo inkubováno v chladničce bez zakrytí. | Utěsněte sklíčko lakem na nehty nebo parafínovým voskem. |
| | I.F. mikroskop je špinavý. Možné poškrábání čočky. | Mikroskop vyčistěte podle pokynů. |
| Malá nebo žádná fluorescence | Konjugát a sklíčka byly rozmrazeny a znovu zmrazeny. | Konjugát a sklíčka skladujte při teplotě 2–8 °C / 35,6–46,4 °F. |
| | Kontroly byly naředěny. | Nahlédněte do pokynů, použijte kontroly soupravy připravené k použití. |
| | • Bakteriální kontaminace séra nebo konjugátu.<br>• Mikroskop není nastavený.<br>• Hodnota pH promývacího roztoku je příliš nízká (hodnota pH 7,4 ± 0,2). | Zkontrolujte podmínky. |
| | Konjugát FITC byl vystaven světlu. | Konjugát skladujte chráněný před světlem. |
| Fluorescence pozadí | • Nesprávné promytí.<br>• Vysušené sklíčko.<br>• Lipemická, hemolytická séra.<br>• Chyba mikroskopu. | • Nahlédněte do pokynů k promývání.<br>• Nenechte sklíčko vyschnout.<br>• Používejte pouze čerstvá séra.<br>• Zkontrolujte, zda máte správný filtr/objektiv. |

## 14. PŘEDEPSANÉ SYMBOLY

| | | |
|---|---|---|
| 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 | - K diagnostickému použití in vitro |
| REF | - Numero d'ordine | - Cataloge number |
| | - Référence Catalogue | - Numéro de catálogo |
| | - Katalognummer | - Αριθμός παραγγελίας |
| | - Número de catálogo | - Katalogové číslo |
| LOT | - Descrizione lotto | - Lot |
| | - Lot | - Lote |
| | - Chargen Bezeichnung | - Χαρακτηρισμός παρτίδας |
| | - Lote | - Šarže |
| 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 | - Jedinečný identifikátor prostředku |
| CE | - Conformità europea | - EC Declaration of Conformity |
| | - Déclaration CE de Conformité | - Declaración CE de Conformidad |
| | - Europäische Konformität | - Ευρωπαϊκή συμφωνία |
| | - Declaração CE de conformidade | - ES prohlášení o shodě |
| 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 |
| | - Elektronische Gebrauchsanweisung beachten | - Ακολουθήστε τις ηλεκτρονικές οδηγίες χρήσης |
| | - Seguir as instruções electrónicas de utilização | - Viz elektronický návod k použití |
| | - Da utilizzarsi entro | - Use by |
| | - Utilise avant le | - Utilizar antes de |
| | - Verwendbar bis | - Χρήση μέχρι |
| | - Utilizar antes de | - Spotřebujte do |
| +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) | - Skladujte při teplotě 2–8 °C (35,6–46,4 °F) |
| | - Prodotto da | - Manufactured by |
| | - Fabriqué par | - Fabricado por |
| | - Hergestellt von | - Κατασκευάζεται από |
| | - Fabricado por | - Vyrábí |
| DYE | - Colorante Blue-Evans | - Evans-Blue Dye |
| | - coloration au Bleu Evans | - Colorante Azul de Evans |
| | - Evans-Blue Färbelösung | - Evans Blue |
| | - Evans Blue | - Barvivo Evansova modř |
| CONTROL + | - Controllo positivo | - Positive Control |
| | - Contrôle Positif | - Control Positivo |
| | - Positiv Kontrolle | - Θετικός ορός ελέγχου |
| | - Controlo positivo | - Pozitivní kontrola |
| CONTROL − | - Controllo negativo | - Negative Control |
| | - Contrôle Négatif | - Control Negativo |
| | - Negativ Kontrolle | - Αρνητικός ορός ελέγχου |
| | - Controlo negativo | - Negativní kontrola |
| SEAL | - Mezzi di montaggio | - Mounting media |
| | - milieu de montage | - Medio de montaje |
| | - Mounting Medium | - Μέσο μονιμοποίησης |
| | - Meio de montagem | - Fixační média |
| CONJ | - Coniugato | - Conjugate |
| | - Conjugé | - Conjugado |
| | - Konjugat | - Σύζευγμα |
| | - Conjugado | - Konjugát |
| | - Vetrino per microscopio | - Microscope slide |
| | - lame de microscope | - Portaobjetos |
| | - Objektträger | - Αντικειμενοφόρο πλακίδιο |
| | - Lâmina | - Mikroskopické sklíčko |
| WASHB 10x | - Tampone di lavaggio | - Wash Buffer |
| | - Tampon de Lavage | - Solución de lavado |
| | - Waschpuffer | - Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης |
| | - Solucão de lavagem | - Promývací pufr |
| SB 1x | - Tampone di campione | - Sample Buffer |
| | - Tampon de Echantillons | - Solución de muestras |
| | - Probenpuffer | - Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων |
| | - Solução para amostras | - Pufr pro vzorky |

| | | |
|---|---|---|
|  | - Numero di determinazioni | - Number of determnations |
| | - Nombre de déterminations | - Número de determinaciones |
| | - Anzahl der Prüfungen | - Αριθμός προσδιορισμών |
| | - Número de determinações | - Počet determinací |
|  | - Non riutilizzare | - Do not reuse |
| | - Ne pas réutiliser | - No reutilizar |
| | - Nicht wiederverwenden | - Μην επαναχρησιμοποιείτε |
| | - Não reutilizar | - Nepoužívejte opakovaně |
|  | - 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 | - Chraňte před světlem |
|  | - Conservare all'asciutto | - Store dry |
| | - Stocker au sec | - Almacenar en seco |
| | - Trocken aufbewahren | - Αποθηκεύστε ξηρά |
| | - Armazenar em local seco | - Skladujte v suchu |
|  | - 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 | - Nepoužívejte, pokud je obal poškozený. Přečtěte si návod k použití |