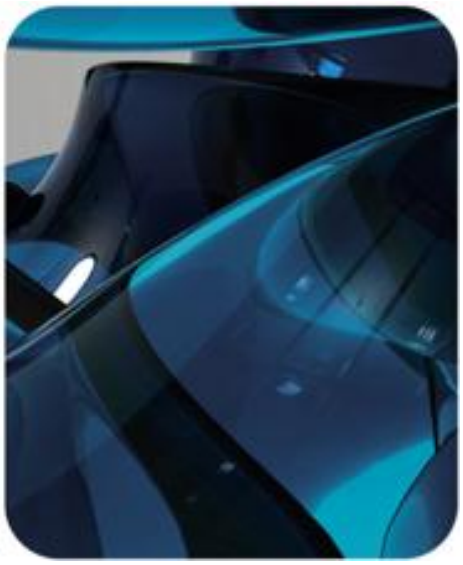
AESKU.DIAGNOSTICS

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS





AESKUSLIDES®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

Οδηγίες χρήσης

AESKUSLIDES® nDNA

Ref 53.100

CE

AESKUSLIDES®
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



eIFU
WWW.AESKU.COM

Οδηγίες χρήσης

nDNA (*Crithidia luciliae*)

Αναφ. προτύπου	Περιγραφή	Δοκιμές
53.100	**nDNA** (10 βοθρία)	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

Πίνακας περιεχομένων

1. Χρήση για την οποία προορίζεται 1
2. Κλινική εφαρμογή και αρχές του προσδιορισμού 1
3. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΚΙΤ 2
4. ΕΡΜΗΝΕΙΑ 2
5. ΕΙΔΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ 3
5.1. Ευαισθησία/ειδικότητα 3
a. Πίνακας 1: Συνδυασμένο σύνολο δεδομένων με διαστήματα εμπιστοσύνης 3
5.2. Αναπαραγωγιμότητα και ακρίβεια 3
6. ΦΥΛΛΟ ΕΡΜΗΝΕΙΑΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ 4
7. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΤΥΠΙΚΟΥ ΚΙΤ 5
8. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΚΟΙΝΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ 6
b. Κοινά αντιδραστήρια 6
c. Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται 6
9. Φύλαξη και διάρκεια ζωής 7
10. Υποδείξεις και Προφυλάξεις χρήσης 7
d. Δεδομένα κινδύνου για την υγεία 7
e. Γενικές οδηγίες χρήσης 7
11. Συλλογή, χειρισμός και φύλαξη των δειγμάτων 8
12. Διεξαγωγή της δοκιμασίας 8
f. Προετοιμασία 8
g. Διεξαγωγή δοκιμασίας 9
h. Ροή εργασιών 10
13. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ 11
14. ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΑ ΣΥΜΒΟΛΑ 12

nDNA (*Crithidia luciliae*)

1. ΧΡΉΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΊΑ ΠΡΟΟΡΊΖΕΤΑΙ

***AESKUSLIDES*® nDNA (*Crithidia luciliae*)** είναι μία δοκιμασία έμμεσου ανοσοφθορισμού για τον προσδιορισμό αυτοαντισωμάτων IgG έναντι της φυσικής διπλής έλικας του DNA στον ανθρώπινο ορό. Το κιτ δοκιμής προορίζεται μόνο για επαγγελματική χρήση σε εργαστήρια.

2. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΚΑΙ ΑΡΧΕΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

Τα αντισώματα που συνδέονται με το DNA ανήκουν σε μία ομάδα αντιπυρηνικών αντισωμάτων, τα οποία παρατηρούνται σε μεμονωμένες αυτοάνοσες νόσους. Αντισώματα, τα οποία αντιδρούν με φυσικό δίκλωνο DNA, θεωρούνται ειδικά για το συστηματικό ερυθηματώδη λύκο (ΣΕΛ) και παρατηρούνται περίπου στο 50-80 % των ασθενών. Αντισώματα έναντι του dsDNA διαπιστώνονται σε ενεργές φάσεις του ΣΕΛ. Η εμφάνιση της συγκέντρωσης ορού είναι ανάλογη με τη βαρύτητα της ασθένειας. Για το λόγο αυτό η διαπίστωση αυτών των αυτοαντισωμάτων είναι σημαντική για τη διάγνωση και για την κλινική παρακολούθηση του ΣΕΛ. Σύμφωνα με αυτά καθιερώθηκε ως ένα από τα ένδεκα κριτήρια ACR για τη διάγνωση του ΣΕΛ. Οι περισσότεροι ασθενείς με ΣΕΛ έχουν αντισώματα IgG ενάντια του dsDNA. Αυτά τα αυτοαντισώματα σχετίζονται με την εμφάνιση της νεφρίτιδας του λύκου. Σχεδόν το 30 % των ασθενών που πάσχουν από ΣΕΛ έχουν πρόσθετα αντι-dsDNA-αντισώματα της υποομάδας IgA. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η εμφάνιση αυτών των αντισωμάτων IgA anti-dsDNA ίσως να ορίζουν μία συγκεκριμένη υποομάδα ασθενών με ΣΕΛ. Πράγματι σε μελέτες καταδείχτηκε η συσχέτιση αυτής της υποομάδας με συγκεκριμένες παραμέτρους της δραστηριότητας της νόσου, π.χ. αυξημένη καθίζηση ερυθροκυττάρων ή την κατανάλωση παραγόντων C3 του συμπληρώματος, όπως επίσης και με τις κλινικές παραμέτρους της δερματικής αγγειίτιδας, της νέκρωσης των άκρων και του ερυθήματος. Ωστόσο δεν βρέθηκε συσχέτιση με τη νεφρίτιδα και την αρθρίτιδα.

Αντισώματα IgM αντι-dsDNA βρέθηκαν στο 52 % των ασθενών με ΣΕΛ. Σε αντίθεση με τα αυτοντισώματα IgG και IgA, τα αντισώματα της υποομάδας IgM δε σχετίζονται με τη δραστηριότητα της νόσου. Ωστόσο παρατηρήθηκε μία πολύ σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ της διαπίστωσης των αντισωμάτων IgM αντι-dsDNA και της νεφρίτιδας του λύκου, συμπεριλαμβανομένου των εργαστηριακών παραμέτρων. Για το λόγο αυτό, αποδίδεται στα IgM αντι-dsDNA-αντισώματα, μία προστατευτική ικανότητα έναντι της εκδήλωσης νεφρίτιδας του λύκου.

Χαρακτηρισμός αντιγόνων: μιτοχονδριακό DNA από *Crithidia luciliae*

Αντιδράσεις διασταύρωσης: Δεν έχουν γίνει γνωστές

Η δοκιμασία βασίζεται στην αρχή του προσδιορισμού έμμεσου ανοσοφθορισμού:. Οι γυάλινες αντικειμενοφόροι μικροσκοπίου επικαλύπτονται με τομές ιστών ή κύτταρα (κύτταρα HEp-2 για τον προσδιοριαμό ANA, κοκκιοκύτταρα για τον προσδιορισμό ANCA ή *Crithidia luciliae* για τον πορσδιορισμό άντι nDNA αντισωμάτων). Αν ο ορός του ασθενούς περιέχει αντισώματα ενάντια σε συστατικά συτοιχεία των ιστών ή κυττάρων αυτά συνδέονται κατά τη διάρκεια της πρώτης επώασης στο αντίστοιχο υπόστρωμα επάνω στο αντικειμενοφόρο. Το μη δεσμευμένο υλικό απομακρύνεται με ένα βήμα πλύσης. Τα συνδεμένα αντισώματα του ασθενή ανιχνεύονται με αντιανθρώπινες ανοσοσφαιρίνες σημασμένες με φλουορεσκεΐνη κατά τη διάρκεια της δεύτερης επώασης, τα οποία συνδέοενται στα συνδεμένα αντισώματα του ασθενή και απεικονίζονται με την χρωστική τους ουσία φθορισμού. Προκύπτει μια ειδική πράσινη φθορίζουσα χρώση συμπλέγματος αντιγόνου-αντισώματος, η οποία μπορεί να απεικονιστεί με τη βοήθεια ενός μικροσκοπίου φθορισμού.

3. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΚΙΤ

Ανατρέξτε στη Διεξαγωγή δοκιμασίας στην Ενότητα 12, του Κοινού εγχειριδίου, για λεπτομερείς οδηγίες. Τα παρακάτω στοιχεία θα χρησιμοποιηθούν για τα κιτ nDNA:

- Χρόνος αντίχρωσης: 30-90 δευτερόλεπτα
- Συνιστώμενος τίτλος ελέγχου:
  - 1:10

4. ΕΡΜΗΝΕΙΑ

Τα *Crithidia luciliae* περιέχουν ένα γιγάντιο μιτοχόνδριο, γνωστό επίσης και ως κινητοπλάστης, που περιέχει μόνο dsDNA.
Στην παρουσία αντισωμάτων έναντι nDNA, είναι ορατός ένας ομοιογενής φθορισμός του κινητοπλάστη ή μάλλον του πυρηνίσκου και του κινητοπλάστη που βρίσκεται ανάμεσα στον πυρηνίσκο και το βασικό σώμα κοντά στο μαστίγιο.
Η αξιολόγηση θα πρέπει να διεξάγεται πάντα με θετικούς και αρνητικούς μάρτυρες.
Το δείγμα θα πρέπει να αξιολογείται ως αρνητικό έναντι nDNA αν ο φθορισμός του βασικού σώματος προκύπτει κοντά στην προέλευση του μαστιγίου ή του πυρηνίσκου μόνο και δεν υπάρχουν συγκεκριμένα αντισώματα nDNA.

Παραδείγματα για αραίωση:

1:10	10 µL ορού	+	90 µL ρυθμιστικού διαλύματος δείγματος
1:20	10 µL ορού	+	190 µL ρυθμιστικού διαλύματος δείγματος
1:40	10 µL ορού	+	390 µL ρυθμιστικού διαλύματος δείγματος
1:80	10 µL ορού	+	790 µL ρυθμιστικού διαλύματος δείγματος

κ.ο.κ.

Ο ανοσοφθορισμός εμφανίζει μια χαρακτηριστική σχηματομορφή διπλών κηλίδων στην παρουσία των αντι-ds-DNA, ενώ μόνο ο πυρηνίσκος εμφανίζει φθορισμό στην περίπτωση των μη θετικών dsDNA πυρηνικών αντισωμάτων. (Το dsDNA είναι ένα σημαντικό αυτοαντιγόνο στο ΣΕΛ με ακρίβεια 95%).

Σε ασθενείς με ΣΕΛ, παρατηρούνται αντισώματα με ποικιλία πυρηνικών αντιγόνων. Ο σημαντικότερος συσχετισμός με αυτήν τη νόσο υποδηλώνεται από το αντίσωμα κατά του Sm (γλυκοπρωτεΐνη) το οποίο εμφανίζεται ως μια σειρά διάστικτων σχηματομορφών στα κύτταρα HEp-2 και το αντίσωμα κατά του nDNA (περιφερική ή ομοιογενής σχηματομορφή στα κύτταρα HEp-2).

Τα αντισώματα έναντι της φυσικής διπλής έλικας του DNA είναι ιδιαιτέρως συγκεκριμένα για το ΣΕΛ. Παρόλο που τα χαμηλά επίπεδα αντισώματος κατά του nDNA ενδέχεται να παρατηρούνται και σε άλλες νόσους, π.χ. στο σύνδρομο Sjögren, στη μεικτή νόσο του συνδετικού ιστού (MCTD) και τη δερματομυοσίτιδα, υψηλοί τίτλοι αντισωμάτων κατά του nDNA ανιχνεύονται σχεδόν αποκλειστικά στο ΣΕΛ.[1]

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

5. ΕΙΔΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

5.1. Ευαισθησία/ειδικότητα

Η δοκιμή ***AESKUSLIDES*® nDNA** συγκρίθηκε με άλλο εμπορικά διαθέσιμο σύστημα δοκιμής έμμεσου ανοσοφθορισμού χρησιμοποιώντας το παράσιτο *Crithidia luciliae*. 297 δείγματα ορού από ασθενείς με Συστηματικό ερυθηματώδη λύκο (ΣΕΛ) και 479 δείγματα ορού από ασθενείς με άλλες ασθένειες (μη υγιείς δότες) έχουν αναλυθεί χειροκίνητα και αξιολογηθεί σε δύο αναλυτές. Για τον προσδιορισμό των θετικών δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε αραίωση διαχωρισμού 1:10. Στα κλινικά δείγματα συμπεριελήφθησαν δείγματα από μεγάλο εύρος αυτοάνοσων νοσημάτων.

Στη σύγκριση της δοκιμασίας ***AESKUSLIDES*® nDNA** λάβαμε τα ακόλουθα αποτελέσματα:

a. Πίνακας 1: Συνδυασμένο σύνολο δεδομένων με διαστήματα εμπιστοσύνης

		Ανάλυση επιβεβαίωσης		
		Θετικό	Αρνητικό	Σύνολο
***AESKUSLIDES*® nDNA**	Θετικό	79	14	93
	Αρνητικό	108	575	683
	Σύνολο	187	589	776

Ευαισθησία = 79/187 = 42,2 % (95th % CI: 35,4 - 49,4 %)
Ειδικότητα = 575/589 = 97,6 % (95th % CI: 96,1 - 98,6 %)

Τα διαστήματα εμπιστοσύνης 95 % είναι διαστήματα ενδεικτικά της βεβαιότητας στη βαθμολόγηση, σύμφωνα με τη μέθοδο Wilson[2].

5.2. Αναπαραγωγιμότητα και ακρίβεια

Για την επικύρωση της αναπαραγωγιμότητας της δοκιμασίας ***AESKUSLIDES*® nDNA** πραγματοποιήθηκαν μελέτες εντός εργαστηρίου και μεταξύ εργαστηρίων. 11 δείγματα ορού αναλύθηκαν με τη δοκιμή ***AESKUSLIDES*® nDNA** σε πέντε διαφορετικές ημέρες, με δύο κύκλους λειτουργίας τη μέρα και τρεις επαναλήψεις σε κάθε κύκλο λειτουργίας σε τρεις διαφορετικές εγκαταστάσεις. Το σύνολο των δειγμάτων, συμπεριλαμβανομένων αρνητικών, μετρίως θετικών και έντονα θετικών δειγμάτων, υπέστη επεξεργασία χειροκίνητα αλλά και με το σύστημα **HELIOS® Automated IFA System**, και αξιολογήθηκε σε δύο αναλυτές. Η συμφωνία θετικών και αρνητικών δειγμάτων ήταν ≥ 90 %. Τα δείγματα είχαν σταθερές εντάσεις φθορισμού σε όλα τα βοθρία που εξετάστηκαν.

[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. ΦΥΛΛΟ ΕΡΜΗΝΕΙΑΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

nDNA

Ημερομηνία:	Παρτίδα:
Αρ. αντικειμενοφόρου:	Χειριστής:

Αρ. βοθρίου	Αναγνωριστικό	Παράγοντας αραίωσης	F.I.	Πυρήνας	Κινητοπλάστης	Βασικό σώμα	Αποτελέσματα	Παρατηρήσεις
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								

7. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΤΥΠΙΚΟΥ ΚΙΤ

		ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟΦΟΡΟΙ				ΣΥΖΕΥΓΜΑ			ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ		
Αναφ. κιτ	**Περιγραφή του κιτ**	**Αναφ.**	**Βοθρία**	**Επικαλλυμένα με**	**Ποσότητα**	**Αναφ.**	**Περιγραφή**	**Ποσότητα**	**Αναφ.**	**Περιγραφή**	**Ποσότητα**
53.100	**nDNA** (10 βοθρία)	**S53.100**	10	Κύτταρα *Crithidia luciliae*	10 x	**C53.100**	**IgG** Μπλε καπάκι: διάλυμα ελαφρώς μπλε χρώματος. Συστατικά στοιχεία: BSA, Φλουορεσκεΐνη (FITC)-επισημασμένο αντι-ανθρώπινο αντίσωμα	1 x 5 ml	**PC53.100**	Θετικός μάρτυρας nDNA. Κόκκινο καπάκι: άχρωμο διάλυμα. Συστατικά στοιχεία: Ανθρώπινος ορός (διαλυμένος), οξείδιο του νατρίου < 0,1% (συντηρητικό)	1 x 0,5 ml

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Τα περιεχόμενα των υπόλοιπων συστατικών των κιτ, δηλαδή, τα κοινά αντιδραστήρια (αρνητικός ορός ελέγχου, μέσο μονιμοποίησης κλπ.) περιγράφονται παρακάτω στην ενότητα 8 ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΚΟΙΝΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ.

8. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΚΟΙΝΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

b. Κοινά αντιδραστήρια

Αναφ.	αντιδραστήριο	Ποσότητα / Όγκος		Περιγραφή	Έτοιμο προς χρήση
NCIFA	Αρνητικός μάρτυρας	1 x	0,5 ml	Πράσινο καπάκι: άχρωμο διάλυμα. Συστατικά στοιχεία: Ανθρώπινος ορός (διαλυμένος), οξείδιο του νατρίου < 0,1% (συντηρητικό)	ΝΑΙ
*** EBIFA**	Evans Blue 0,2 %	1 x	1,5 ml	Λευκό καπάκι: Διάλυμα μπλε χρώματος Συστατικά στοιχεία: PBS, Evans Blue. Αραιώστε το Evans Blue 0,2% κατά 1:3000 σε 1x WBIFA	ΟΧΙ
MMIFA	Μέσο μονιμοποίησης	1 x	8 ml	Εγκεκριμένο για χρήση με το HELMED® Λευκό καπάκι: άχρωμο διάλυμα Συστατικά στοιχεία: PBS, Γλυκερίνη.	ΝΑΙ
WBIFA	Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (10 x)	1 x	100 ml	Λευκό καπάκι: άχρωμο διάλυμα Αραιώστε το συμπυκνωμένο ρυθμιστικό διάλυμα κατά 1:10 σε αποσταγμένο νερό (π.χ.: 100 ml + 900 ml). Συστατικά στοιχεία: PBS, οξείδιο του νατρίου (συντηρητικό).	ΟΧΙ
SBIFA	Ρυθμιστικό διάλυμα δείγματος	1 x	70 ml	Λευκό καπάκι: άχρωμο διάλυμα για την αραίωση του ορού του ασθενούς Συστατικά στοιχεία: BSA PBS, οξείδιο του νατρίου (συντηρητικό).	ΝΑΙ

Οι ποσότητες ανά κιτ είναι οι εξής. (*) πρέπει να παραγγελθούν ξεχωριστά

c. Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

1. Αποσταγμένο νερό
2. Δοκιμαστικοί σωλήνες για αραίωση δειγμάτων
3. Δοχείο μέτρησης
4. Ογκομετρική πιπέτα
5. Χρονόμετρο
6. Μικροσκόπιο φθορισμού με σύστημα FITC, (φίλτρο διέγερσης 490nm, φίλτρο αποκοπής 510nm)
7. Δίσκος επώασης
8. Τρυβλίο χρώσης
9. Ρύγχη πιπετών
10. Καλυπτρίδες (24x60 mm)
11. συμπίεση υδροβολέα

Στην περίπτωση κατά την οποία οι πληροφορίες του προϊόντος, συμπεριλαμβανομένων των ετικετών, είναι ελλιπείς ή εσφαλμένες, επικοινωνήστε με τον κατασκευαστή ή τον προμηθευτή του κιτ δοκιμής.

9. Φ΄ΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΔΙΆΡΚΕΙΑ ΖΩ΄ΗΣ

Φυλάσσετε όλα τα αντιδραστήρια σε 2-8 °C / 35,6-46,4 °F στα αρχικά τους δοχεία, προστατευμένα από το έντονο φως. Πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η ημερομηνία λήξης του κάθε μέρους που υποδεικνύεται στην ετικέτα. Μην χρησιμοποιείτε τα αντιδρστήρια μετά την ημερομηνία λήξης.

Φυλάσσετε όλα τα αντιδραστήρια και τα πλακίδια σε θερμοκρασία 2-8 °C / 35,6-46,4 °F, στα αρχικά τους δοχεία. Όταν παρασκευαστούν, τα αραιωμένα διαλύματα είναι σταθερά για τουλάχιστον 1 εβδομάδα σε θερμοκρασία 2-8 °C / 35,6-46,4 °F. **Τα αντιδραστήρια και τα πλακίδια πρέπει να χρησιμοποιηθούν μόνο πριν από την ημερομηνία λήψης που αναγράφεται σε κάθε μέρος.**

10. ΥΠΟΔΕΊΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΆΞΕΙΣ ΧΡΉΣΗΣ

d. Δεδομένα κινδύνου για την υγεία

ΑΥΤΟ ΤΟ ΠΡΟΪΟΝ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ IN VITRO.

Ως εκ τούτου, μόνο εκπαιδευμένο προσωπικό και ενημερωμένο ειδικά για τις μεθόδους in vitro διαγνωστικής μπορεί να χρησιμοποιήσει το κιτ. Παρόλο που αυτό το προϊόν δεν θεωρείται ιδιαίτερα τοξικό ή επικίνδυνο σε συνθήκες κανονικής χρήσης, ανατρέξτε στα ακόλουθα για μέγιστη ασφάλεια:

Συστάσεις και προφυλάξεις

Αυτό το κιτ περιέχει δυνητικά επικίνδυνα μέρη. Αν και τα αντιδραστήρια του κιτ δεν ταξινομούνται ως ερεθιστικά για τα μάτια και το δέρμα, συνιστούμε την αποφυγή της επαφής με τα μάτια και το δέρμα και τη χρήση αναλώσιμων γαντιών.

Όλα τα υλικά ανθρώπινης προέλευσης που χρησιμοποιούνται για μερικά αντιδραστήρια αυτού του κιτ (έλεγχοι και βαθμονομητές κ.λπ.) έχουν ελεγχθεί με εγκεκριμένες μεθόδους και έχουν βρεθεί αρνητικά για HBsAg, ηπατίτιδα C και HIV. Ωστόσο, καμία εξέταση δεν μπορεί να εγγυηθεί απολύτως την απουσία ιογενών παραγόντων σε τέτοια υλικά. Για το λόγο αυτό, οι έλεγχοι, οι βαθμονομητές του κιτ και τα δείγματα των ασθενών θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ως δυνητικά υλικά μετάδοσης λοιμωδών νόσων και σύμφωνα με τις εθνικές απαιτήσεις.

Το διαγνωστικό σύνολο περιέχει υλικό ζωικής προέλευσης (αλβουμίνη βοός BSA , ανοσοσφαιρίνη) , όπως αναγράφεται στον πίνακα περιεχομένων, χειριστείτε το ανάλογα με τις εθνικές οδηγίες και απαιτήσεις'.

e. Γενικές οδηγίες χρήσης

1. Μην αναρροφάτε με πιπέτα με το στόμα. Μην καπνίζετε, μην τρώτε και μην πίνετε κατά το χειρισμό του κιτ.
2. Μην αναμειγνύετε ή υποκαθιστάτε αντιδραστήρια από διαφορετικούς αριθμούς παρτίδας. Κάτι τέτοιο ενδέχεται να προκαλέσει μεταβολές των αποτελεσμάτων.
3. Κρατήστε όλα τα δοχεία σφραγισμένα μετά τη χρήση για την αποφυγή βακτηριακής μόλυνσης.
4. Εκτελείτε πάντοτε μεταφορά με πιπέτα όλων των διαλυμάτων με νέα αποστειρωμένα ρύγχη μεταφοράς με πιπέτα.
5. Μην εκθέτετε ποτέ τα μέρη σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 37°C / 98,6°F (εκτός από το MMIFA).
6. Ποτέ μην αφήνετε τις υποδοχές της αντικειμενοφόρου να αποξηραίνονται καθόλη τη διάρκεια της διαδικασίας.
7. 7. Ποτέ μην καταψύχετε τις αντικειμενοφόρους!

Συνιστάται κάθε εργαστήριο να καθιερώσει τις δικές του φυσιολογικές τιμές με βάση τις τεχνικές, τους ελέγχους , τον εξοπλισμό και τον πληθυσμό ασθενών του, σύμφωνα με τις καθιερωμένες διαδικασίες του εργαστηρίου.

Η οριστική κλινική διάγνωση δεν θα πρέπει να βασίζεται μόνο στα αποτελέσματα των εκτελούμενων εξετάσεων, αλλά θα πρέπει να τίθεται από τον ιατρό μετά από την αξιολόγηση όλων των κλινικών και εργαστηριακών ευρημάτων.

Στην περίπτωση κατά την οποία τα αποτελέσματα των δοκιμών δεν συμφωνούν με τα κριτήρια, η δοκιμή είναι άκυρη και θα πρέπει να επαναληφθεί. Θα πρέπει να ελεγχθούν οι παρακάτω τομείς: Ημερομηνίες λήξης (κατ' εκτίμηση) των αντιδραστηρίων, συνθήκες αποθήκευσης, πιπέτες και άλλα υλικά επεξεργασίας, φωτόμετρο, χρόνοι επώασης και μέθοδος πλύσης. Στην περίπτωση κατά την οποία τα αποτελέσματα δεν παρουσιάζουν καμία απόκλιση ή άλλου είδους διαφοροποίηση από τις αναμενόμενες τιμές, επικοινωνήστε με τον κατασκευαστή ή τον προμηθευτή σας.

11. ΣΥΛΛΟΓΗ, ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΦΥΛΑΞΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Χρησιμοποιείτε κατά προτίμηση δείγματα ορού που έχουν συλλεχθεί πρόσφατα. Η αιμοληψία πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τις εθνικές απαιτήσεις. Συλλέξτε τα δείγματα αίματος με ασηπτικές μεθόδους.

Μη χρησιμοποιείτε λιπαιμικά, ικτερικά, αιμολυμένα ή μικροβιακά μολυσμένα δείγματα.

Σε περίπτωση θολών δειγμάτων, να διεξάγεται φυγοκέντρηση σε χαμηλές στροφές (<1000 x g). Τα δείγματα αίματος πρέπει να συλλέγονται σε καθαρά, στεγνά και άδεια σωληνάρια. Μετά το διαχωρισμό, τα δείγματα ορού πρέπει να χρησιμοποιούνται εντός 8 ωρών, να αποθηκεύονται αντίστοιχα σφιχτά κλεισμένα σε 2–8 °C / 35,6-46,4 °F για έως και 2 εβδομάδων ή σε κατάψυξη σε -20 °C / -4 °F για μακρύτερες περιόδους. Αποφεύγετε την επανειλημμένη κατάψυξη και απόψυξη.

12. ΔΙΕΞΑΓΩΓΉ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΊΑΣ

f. Προετοιμασία

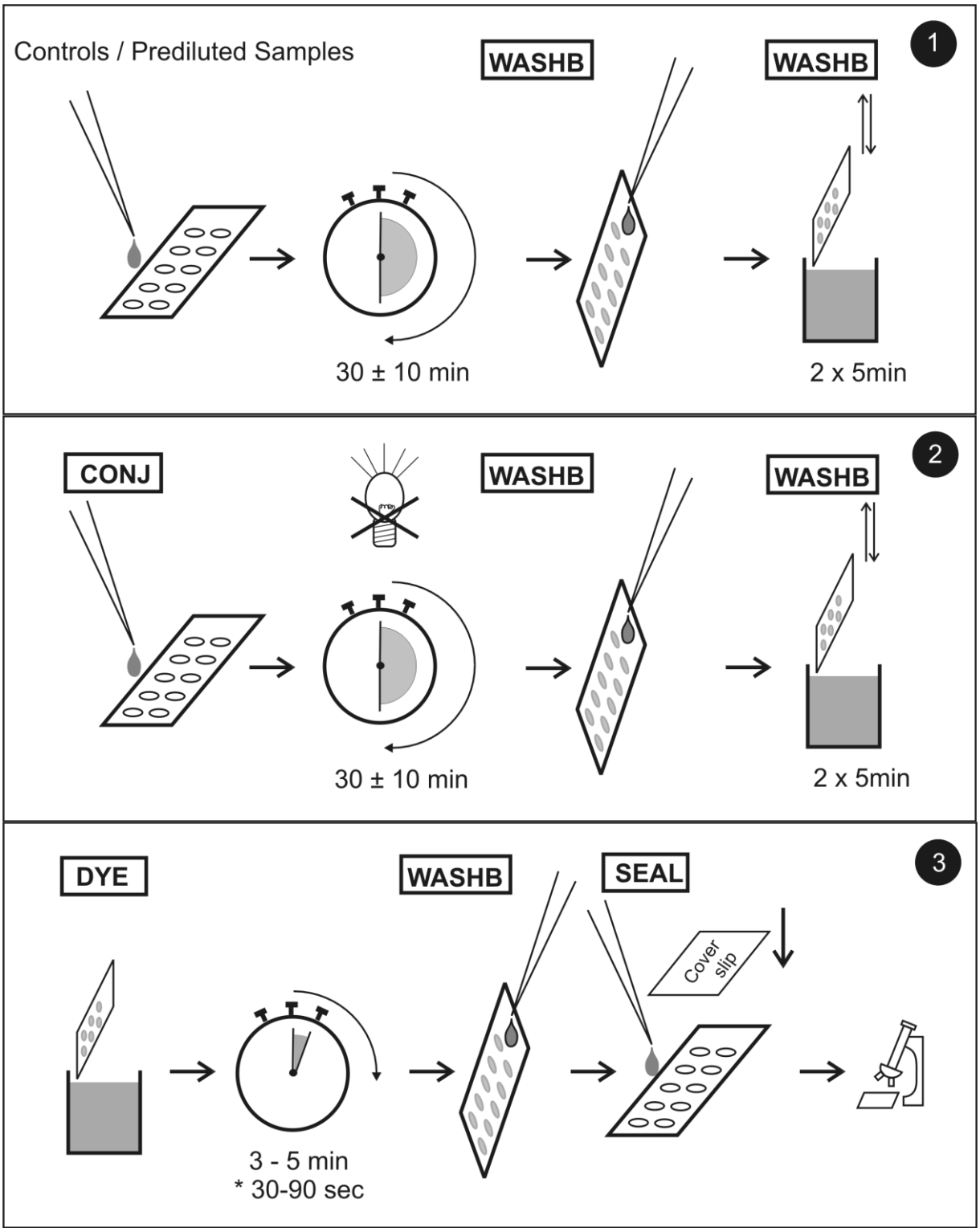
Αφήστε όλα τα συστατικά να έλθουν σε θερμοκρασία δωματίου (20-26 °C / 68-78,8 °F) πριν τη χρήση, αναμείξτε καλά και ακολουθήστε το συνιστώμενο σχήμα επώασης για μια βέλτιστη απόδοση της εξέτασης.

1. Προετοιμασία του Ρυθμιστικού ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης: Αραιώστε το συμπυκνωμένο ρυθμιστικό διάλυμα κατά 1:10 σε αποσταγμένο νερό.
2. Αραίωση δειγμάτων: Αραιώστε ορό ασθενούς (για τον τίτλο ελέγχου ανατρέξτε στην ενότητα ***Διαδικασία κιτ*** παραπάνω σύμφωνα με την αναφορά προϊόντος που χρησιμοποιείτε) με 1x ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης. Αυτά διαφέρουν ανάμεσα στα κιτ HEp-2, nDNA, rLKS, EMA κλπ.
3. Οι μάρτυρες είναι έτοιμοι για χρήση.
4. Προετοιμασία πρωτοκόλλου: Φύλλα ερμηνείας δεδομένων είναι διαθέσιμα στην ενότητα ***Διαδικασία κιτ*** παραπάνω σύμφωνα με την αναφορά προϊόντος που χρησιμοποιείτε.
5. Σε περίπτωση αυξημένου ιξώδους ή/και αδιαφάνειας, το αντιδραστήριο μέσου μονιμοποίησης (MMIFA) θα πρέπει να θερμανθεί σε υδατόλουτρο για 15 λεπτά σε θερμοκρασία 56 °C / 132,8 °F και, στη συνέχεια, θα πρέπει να αφεθεί προκειμένου να αποκτήσει θερμοκρασία δωματίου (20-26 °C / 68-78,8 °F) πριν από τη χρήση. Μετά από αυτή τη διαδικασία είναι δυνατή η χρήση του αντιδραστηρίου που θερμάνθηκε για έως και 21 συνεχόμενες ημέρες, εφόσον αποθηκευτεί σε θερμοκρασία από 2-8 °C / 35,6-46,4 °F, όπως καθορίζεται στην ετικέτα του αντιδραστηρίου και τις οδηγίες χρήσης.

g. Διεξαγωγή δοκιμασίας

Αρ.	Περιγραφή βημάτων
1.	Αφαιρέστε τις απαιτούμενες αντικειμενοφόρους που απαιτούνται για τη δοκιμασία σας από την προστατευτική συσκευασία και σημαδέψτε τις αναγράφοντας τα στοιχεία. Μην αγγίζετε τις υποδοχές ιστών και κυττάρων. Μην αφήνετε ποτέ τις αντικειμενοφόρους να στεγνώσουν.
2.	**Προετοιμασία του δίσκου θερμοκοιτίδα:** Τοποθετείστε μικρή ποσότητα απεσταγμένου η απιονισμένου νερού σε ένα δοχείο επώασης και τοποθετείστε τα πλακίδια στις ειδικές θέσεις υποστήριξης του δοχείου επώασης. Επωάστε τα πλακίδια 30 ± 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου στο υγρό δοχείο επώασης. Διατηρείστε σταθερούς χρόνους επώασης με το αντιδραστήριο σύζευξης (conjugate). **Πρώτη επώαση:** Μεταφέρετε με πιπέτα κατάλληλη ποσότητα από κάθε αραιωμένο ορό ασθενή στις κατάλληλες υποδοχές και αποφύγετε τηνεπαφή της πιπέτας με την επιφάνεια της αντικειμενοφόρου. Αποφύγετε την άμεση επαφή της πιπέτας με την επιφάνεια της αντικειμενοφόρου. Φροντίστε κάθε υποδοχή να καλυφθεί πλήρως με τον αντίστοιχο ορό ή έλεγχο. Είναι σημαντικό να χρησιμοποιήσετε όσο υλικό εξέτασης χρειάζεται για την πλήρη κάλυψη της υποδοχής. Αποφύγετε όμως το να τρέξει μεταξύ των υποδοχών γιατί αυτό ενδέχεται να προκαλέσει λανθασμένα αποτελέσματα.
3.	**Πλύση**: Μετά την επώαση αφαιρέστε τα πλακίδια από το δοχείο επώασης και ξεπλύνετε σύντομα με πλυστικό ρυθμιστικό διάλυμα χρησιμοποιώντας πλαστικό δοχείο πίεσης. Μην κατευθύνετε την ροή απευθείας στα βυθίσματα. ΣΗΜ: Για να αποφύγετε επιμόλυνση γείρετε το πλακίδιο πρώτα προς την μια σειρά βοθρίων και, προσεκτικά κατευθύνετε την ροή του πλυστικού κατά μήκος της μέσης του πλακιδίου, αφήνοντας το υγρό να τρέξει έξω από την κατώτερη άκρη του πλακιδίου. Στη συνέχεια γυρίστε το πλακίδιο προς την άλλη σειρά βοθρίων, και επαναλάβετε την διαδικασία, επιστρέποντας στο πλυστικό διάλυμα να τρέξει από την νέα άκρη του πλακιδίου. Βυθίστε τα πλακίδια 10 λεπτά σε πλυστικό διάλυμα μέσα σε ειδικό δοχείο χρώσης. Αποφύγετε την άμεση επαφή σκληρών επιφανειών με το υπόστρωμα. Για άριστα αποτελέσματα αλλάξετε το διάλυμα μια φορά μετά από 5 λεπτά. Αφαιρέστε τα πλακίδια από το δοχείο και προσεκτικά αφαιρέστε το πλεονάζον υγρό. ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Είναι σημαντικό τα βυθίσματα του πλακιδίου να μην στεγνώσουν κατά την διαδικασία γιατί αυτό μπορεί να βλάψει το υπόστρωμα. Παρακαλούμε μην στεγνώνετε ή αφήνετε το πλακίδιο να μείνει για περισσότερο από μερικά δευτερόλεπτα χωρίς την προσθήκη του φθορίζοντος αντισώματος.
4.	**Δεύτερη επώαση:** Μετά από την πλύση τοποθετείστε την αντικειμενοφόρο πλάκα αμέσως στον υγρό θάλαμο και επικαλύψτε κάθε πεδίο δοκιμασίας με επαρκής ποσότητα της έτοιμης προς χρήση σύζευξης. Η οποία είναι σημασμένη με FITC, έτσι ώστε το πεδίο δοκιμασίας να είναι πλήρως καλυμμένο. Επωάστε τα πλακίδια 30 ± 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και στο σκοτάδι.
5.	**Πλύση:** Μετά την επώαση αφαιρέστε τα πλακίδια από το δοχείο επώασης και ξεπλύνετε σύντομα με πλυστικό ρυθμιστικό διάλυμα χρησιμοποιώντας πλαστικό δοχείο πίεσης. Μην κατευθύνετε την ροή απ' ευθείας στα βυθίσματα. Πλύνετε τα πλακίδια για 10 λεπτά σε ειδικό δοχείο χρώσης. Για άριστα αποτελέσματα , αλλάξτε το πλυστικό διάλυμα μια φορά μετά από 5 λεπτά.
6.	***Προαιρετική αντιχρώση**: Αραιώστε την αντιχρώση (Evans Blue) 1:3000 σε ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης και αναμείξτε καλά. Κλίνετε την αντιχρώση στο τρυβλίο χρώσης και επωάστε τις αντικειμενοφόρους σε αυτό. Για τις λεπτομέρειες του χρόνου επώασης, ανατρέξτε στην ενότητα **Διαδικασία κιτ** παραπάνω σύμφωνα με τα στοιχεία αναφοράς του προϊόντος που χρησιμοποιείτε.Αφαιρέστε τις αντικειμενοφόρους μετά από το χρόνο επώασης και εκπλύνετε σύντομα με ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης. Απομακρύνετε προσεκτικά το υπολειπόμενο πλεόνασμα σε ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης. Μη στεγνώνετε την αντικειμενοφόρο με οποιοδήποτε τρόπο.
7.	**Μονιμοποίηση**: Προσθέστε έναν κατάλληλο όγκο μέσου μονιμοποίησης κατά μήκος της μέσης γραμμής κάθε αντικειμενοφόρου. Τοποθετήστε προσεκτικά την καλυπτρίδα στη θέση της, αποφεύγοντας τις φυσαλίδες αέρα.
8.	**Μικροσκοπισμός**: Προβείτε στην ανάγνωση της(ων) αντικειμενοφόρου(ων) με μικροσκόπιο αμέσως σε ολική μεγέθυνση 400 - 800 x με μικροσκόπιο φθορισμού (φίλτρο διέγερσης 490 nm, φίλτρο αποκοπής 510 nm).

h. Ροή εργασιών



13. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ

ΣΦΑΛΜΑ	ΠΙΘΑΝΕΣ ΑΙΤΙΕΣ	ΛΥΣΗ
Χαμηλή πυκνότητα κυττάρων	• Κυτταρική λύση μετά από παρατεταμένη επαφή με απιονισμένο νερό. • Εκτίναξη ρυθμιστικού διαλύματος απευθείας πάνω στο υπόστρωμα στην υποδοχή.	Ακολουθήστε τη διαδικασία πλύσης
	Προσβολή του ποστρώματος από πρωτεολυτικά ένζυμα	Αδρανοποιείστε τον ορό
Ανομοιογενής φθορισμός	Αποξήρανση ορού στην υποδοχή, ισχυρότερος φθορισμός στην άκρη	Επωάζετε πάντοτε σε υγρό περιβάλλον.
	Ο ορός δεν καλύπτει την υποδοχή εξέτασης	Εφαρμόζετε κατάλληλο όγκο υλικού εξέτασης
	Διασταυρούμενη αντίδραση μεταξύ των υποδοχών	Αποφύγετε το να τρέξει υλικό μεταξύ των υποδοχών στην πρώτη επώαση.
	Η σημείωση της αντικειμενοφόρου με κηρομπογιά προκαλεί μια μεμβράνη στην αντικειμενοφόρο	Χρησιμοποιήστε ένα μολύβι
	Λανθασμένη ρύθμιση μικροσκοπίου	Ελέγξτε τη ρύθμιση του μικροσκοπίου Ελέγξτε την αναμενόμενη διάρκεια ζωής της λάμπας UV.
Διάχυτη εικόνα	Αντικειμενοφόρος που επωάστηκε στο ψυγείο χωρίς κάλυψη	Σφραγίστε την αντικειμενοφόρο με βερνίκι νυχιών ή κηρό παραφίνης.
	Το μικροσκόπιο I.F. έχει λερωθεί. Πιθανές αμυχές στο φακό	Καθαρίστε το μικροσκόπιο σύμφωνα με τις οδηγίες του
Μειωμένος ή καθόλου φθορισμός	Συζυγή και αντικειμενοφόροι που έχουν υποβληθεί σε απόψυξη και εκ νέου κατάψυξη	Συζυγές και αντικειμενοφόροι αποθηκευμένοι σε 2-8 °C / 35,6-46,4 °F.
	Αραιωμένοι έλεγχοι	Ελέγξτε τις οδηγίες, χρησιμοποιήστε έτοιμους για χρήση μάρτυρες κιτ.
	• Βακτηριακή μόλυνση των ορών ή του συζυγούς • Δεν έχει γίνει ρύθμιση του μικροσκοπίου. • Πολύ χαμηλή τιμή pH του ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης (τιμή pH 7,4 ± 0,2)	Ελέγξτε τις συνθήκες
	Έκθεση στο φως του συζυγούς με FITC	Φυλάσσετε το συζυγές προστατευμένο από το φως
Φθορισμός υποβάθρου	• Έχει γίνει λανθασμένη πλύση • Η αντικειμενοφόρος έχει αποξηρανθεί • Λιπαιμικοί, αιμολυμένοι ορροί • Σφάλμα μικροσκοπίου	• Ελέγξτε τις οδηγίες πλύσης • Μην αφήνετε τις αντικειμενοφόρους να στεγνώσουν. • Χρησιμοποιείτε μόνο πρόσφατα συλλεγμένους ορούς. • Ελέγξτε την ορθότητα του φίλτρου / αντικειμένου.

14. ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΑ ΣΥΜΒΟΛΑ

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
	- Elektronische 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	