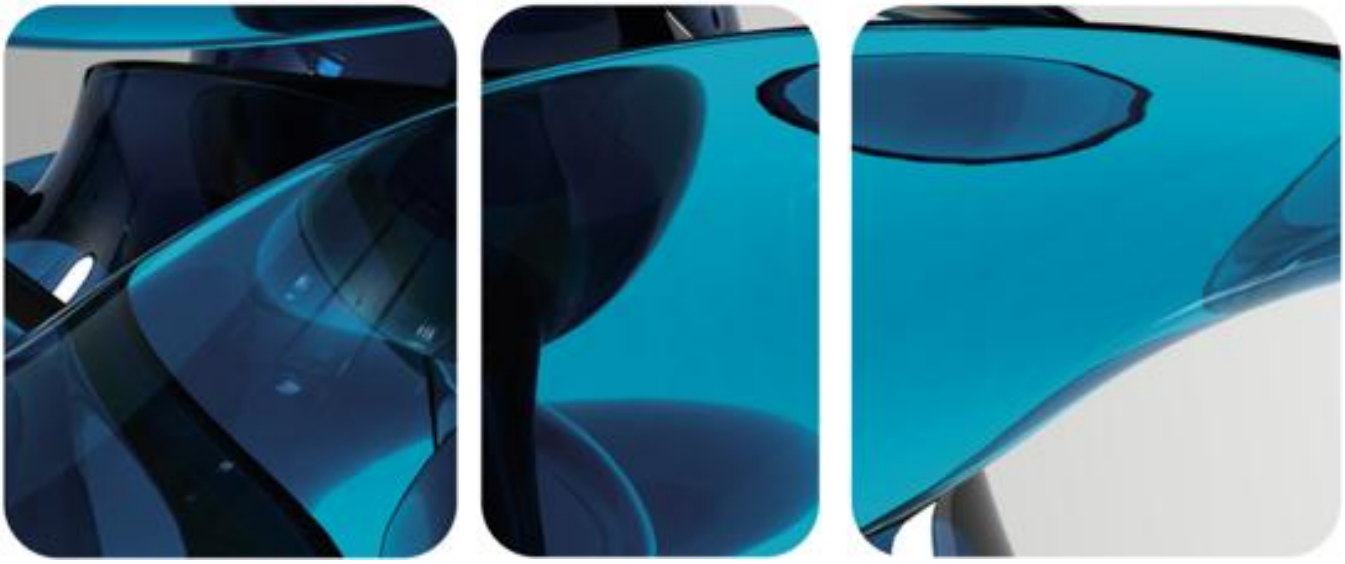
AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKUSLIDES®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

MANUAL DE INSTRUCCIONES

AESKUSLIDES® nDNA

Ref 53.100

CE

AESKUSLIDES®
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



eIFU
WWW.AESKU.COM

MANUAL DE INSTRUCCIONES

nDNA (*Crithidia luciliae*)

Ref. estándar	Descripción	Ensayos
53.100	**nDNA** (10 pocillos)	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

Índice de contenidos

1. USO PREVISTO 1
2. APLICACIÓN CLÍNICA Y PRINCIPIO DEL ENSAYO 1
3. PROCEDIMIENTO CON EL KIT 2
4. INTERPRETACIÓN 2
5. CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE FUNCIONAMIENTO 3
5.1. Sensibilidad/especificidad 3
a. Tabla 1: Intervalos de confianza para el conjunto de datos combinados 3
5.2. Reproducibilidad y precisión 3
6. HOJA DE INTERPRETACIÓN DE DATOS 4
7. CONTENIDO DEL KIT ESTÁNDAR 5
8. CONTENIDO DE REACTIVOS COMUNES 6
b. Reactivos comunes 6
c. Materiales necesarios no suministrados 6
9. ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL 7
10. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES 7
d. Riesgos para la salud 7
e. Instrucciones generales 7
11. OBTENCIÓN, PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS 8
12. PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO 8
f. Preparación 8
g. Procedimiento de la prueba 9
h. Flujo de trabajo 10
13. SOLUCIÓN DE PROBLEMAS 11
14. SÍMBOLOS REGLAMENTARIOS 12

nDNA (*Crithidia luciliae*)

1. USO PREVISTO

***AESKUSLIDES*® nDNA (*Crithidia luciliae*)** es un ensayo de inmunofluorescencia indirecta destinado a detectar anticuerpos IgG contra ADN nativo de doble cadena en suero humano.

El kit de pruebas es para uso profesional exclusivamente en laboratorios.

2. APLICACIÓN CLÍNICA Y PRINCIPIO DEL ENSAYO

Los anticuerpos ligadores de ADN pertenecen a un grupo de anticuerpos antinucleares que pueden encontrarse en diversas enfermedades autoinmunitarias. Los anticuerpos que reaccionan con ADN nativo de doble cadena (dsADN) se consideran específicos del lupus eritematoso sistémico (LES) y se observan en alrededor del 50 a 80% de los pacientes. Los anticuerpos contra dsADN se detectan durante las fases activas del LES. La aparición de concentraciones séricas tiene una correlación positiva con la gravedad de la enfermedad. Por lo tanto, la determinación de estos autoanticuerpos es de importancia para el diagnóstico y el control clínico de la evolución del LES. En consecuencia, este es uno de los 11 criterios de la ACR que se han establecido para el diagnóstico del LES. La mayoría de los pacientes con LES tienen anticuerpos IgG contra dsADN. Estos autoanticuerpos se asocian con la nefritis lúpica. Aproximadamente el 30% de los pacientes con LES desarrollan además anticuerpos IgA anti-dsADN. Existen datos que indican que la aparición de estos anticuerpos IgA anti-dsADN podría definir un subgrupo determinado de pacientes con LES. De hecho, los estudios realizados han demostrado la asociación de esta subclase con determinados parámetros de actividad de la enfermedad, como por ejemplo el aumento de la velocidad de sedimentación globular o el consumo del componente C3 del complemento, así como los parámetros clínicos de vasculitis cutánea, necrosis acral y eritema. Al mismo tiempo, no se ha encontrado ninguna asociación con la nefritis ni la artritis.

Los anticuerpos IgM anti-dsADN se detectan en el suero del 52% de los pacientes con LES. En contraposición con los autoanticuerpos IgG e IgA, los anticuerpos IgM no se correlacionan con la actividad de la enfermedad. No obstante, se ha demostrado una correlación negativa muy significativa entre los anticuerpos IgM anti-dsADN y la nefritis lúpica, incluso de los parámetros de laboratorio. Por esta razón, es posible que los anticuerpos IgM anti-dsADN indiquen la existencia de un subgrupo de pacientes con lupus que están protegidos frente al riesgo de desarrollar una nefritis.

Caracterización del antígeno: ADN mitrocondrial de *Crithidia luciliae*

Reacciones cruzadas: No se conoce la existencia de reacciones cruzadas

La prueba se basa en el principio de inmunofluorescencia indirecta: los portaobjetos están cubiertos con cortes de tejidos o células (células HEp-2 para la determinación de ANA, granulocitos para la determinación de ANCA o *Crithidia luciliae* para la determinación de anticuerpos anti-nDNA). Si el suero del paciente contiene anticuerpos contra componentes de los tejidos o las células, se unirán al sustrato correspondiente sobre el portaobjetos durante la primera incubación. Los componentes del suero no unidos se eliminan mediante un paso de lavado. Los anticuerpos del paciente que quedan unidos se detectan en un segundo paso de incubación con un suero antiinmunoglobulina humana conjugado con fluoresceína, que se unirán a los anticuerpos del paciente y se hacen visibles a través de su colorante fluorescente. Como resultado, los complejos antígeno-anticuerpo presentan una fluorescencia específica de color verde, que puede visualizarse mediante un microscopio de fluorescencia.

3. PROCEDIMIENTO CON EL KIT

Consulte el Procedimiento del ensayo indicado en el Manual común, Sección 12, para obtener instrucciones detalladas. Para los kits de ADNn, debe utilizarse la siguiente información:

- Tiempo de tinción de contraste: de 30 a 90 segundos
- Título de tamizaje recomendado:
  - 1:10

4. INTERPRETACIÓN

Título de tamizaje 1:10

Crithidia luciliae contiene una mitocondria gigante, conocida también como el cinetoplasto que sólo contiene dsADN.

En presencia de anticuerpos frente a ADNn, es visible una fluorescencia homogénea del cinetoplasto o más bien del núcleo y del cinetoplasto situado entre el núcleo y el cuerpo basal próximo al flagelo.

La evaluación debe realizarse siempre con los controles positivo y negativo.

La muestra se debe evaluar como ADNn negativo si la fluorescencia del cuerpo basal se produce cerca del origen del flagelo o sólo del núcleo y no existen anticuerpos frente a ADNn específicos.

Ejemplos para la dilución:

1:10	10 µL de suero	+	90 µL de solución tampón para muestra
1:20	10 µL de suero	+	190 µL de solución tampón para muestra
1:40	10 µL de suero	+	390 µL de solución tampón para muestra
1:80	10 µL de suero	+	790 µL de solución tampón para muestra

etc

La inmunofluorescencia muestra un patrón característico de mancha doble en presencia de anti-dsADN mientras que, en los anticuerpos nucleares no dsADN, sólo el núcleo es fluorescente. (dsADN es un autoantígeno importante en el LES, con una especificidad del 95%).
En pacientes con LES, pueden observarse anticuerpos frente a diversos antígenos nucleares. La correlación más fuerte con esta enfermedad se muestra en los anticuerpos anti-Sm (glucoproteína), que aparece como un patrón nuclear moteado en las células de HEp-2 y en los anticuerpos anti-ADNn (un patrón periférico u homogéneo en las células de HEp-2).

Los anticuerpos anti-ADN de doble hélice original son extremadamente específicos para LES. Aunque pueden observarse niveles bajos de anticuerpos anti-ADNn en otras enfermedades, por ejemplo, síndrome de Sjögren, enfermedad mixta del tejido conjuntivo (EMTC) y dermatomiositis, se detectan títulos elevados de anticuerpos anti-ADNn casi exclusivamente en el LES.[1]

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

5. CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE FUNCIONAMIENTO

5.1. Sensibilidad/especificidad

Se comparó ***AESKUSLIDES*® nDNA** con otro sistema de prueba de inmunofluorescencia indirecta disponible comercialmente utilizando *Crithidia luciliae.* Se han analizado manualmente 297 sueros de pacientes con LES y 479 sueros de pacientes con otras enfermedades (controles negativos de salud), y han sido evaluados por dos lectores. Se utilizó una dilución de corte de 1:10 para determinar las muestras positivas. Las muestras clínicas representaban la gama completa de enfermedades autoinmunitarias.

En la comparación para ***AESKUSLIDES*® nDNA** obtuvimos los siguientes resultados:

a. Tabla 1: Intervalos de confianza para el conjunto de datos combinados

		Kit de comparación		
		Positivo	Negativo	Total
***AESKUSLIDES*® nDNA**	Positivo	79	14	93
	Negativo	108	575	683
	Total	187	589	776

Sensibilidad = 79/187 = 42,2 % (IC 95 %: 35,4 - 49,4 %)
Especificidad = 575/589 = 97,6 % (IC 95 %: 96,1 - 98,6 %)

Los intervalos de confianza del 95 % constituyen puntuaciones para los intervalos de confianza según el método de Wilson[2].

5.2. Reproducibilidad y precisión

Se realizaron estudios intralaboratorio e interlaboratorio para demostrar la reproducibilidad de ***AESKUSLIDES*® nDNA**. Se analizaron 11 muestras de suero en ***AESKUSLIDES*® nDNA** en cinco días, con dos sesiones al día y tres réplicas por sesión en tres centros de estudio. El conjunto de muestras, incluidas las negativas, bajas, medias y positivas altas, se procesó manualmente y mediante el **HELIOS® Automated IFA System**, y fue evaluado por dos lectores. Las concordancias de positivos y negativos fueron ≥ 90 %. Las muestras presentaron intensidades de fluorescencia coherentes en todos los pocillos sometidos a ensayo.

[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. HOJA DE INTERPRETACIÓN DE DATOS

nDNA

Fecha:	Lote:
Portaobjetos n.º:	Técnico:

Pocillo n.º	ID	Factor de dilución	F.I.	Núcleo	Cinetoplasto	Cuerpo basal	Resultados	Comentarios
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								

7. CONTENIDO DEL KIT ESTÁNDAR

		PORTAOBJETOS				CONJUGADO			CONTROL POSITIVO		
Ref. del kit	**Descripción del kit**	**Ref.**	**Pocillos**	**Recubiertos con**	**Cantidad**	**Ref.**	**Descripción**	**Cantidad**	**Ref.**	**Descripción**	**Cantidad**
53.100	**nDNA** (10 pocillos)	**S53.100**	10	Células de *Crithidia luciliae*	10 x	**C53.100**	**IgG** Tapón azul: solución ligeramente azulada. Contiene: BSA, Fluoresceína (FITC)-anti-humano marcado anticuerpo	1 x 5 ml	**PC53.100**	Control positivo de ADNn Tapón rojo: solución incolora. Contiene: suero humano (diluido), azida sódica <0,1% (conservante)	1 x 0,5 ml

NOTA: el contenido del resto de los componentes de los kits, es decir, reactivos comunes (control negativo, medio de montaje, etc.) se describe más adelante en la sección 8 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS COMUNES.

8. CONTENIDO DE REACTIVOS COMUNES

b. Reactivos comunes

Ref.	Reactivo	Cantidad / Volumen		Descripción	Preparado para usar
NCIFA	Control negativo	1 x	0,5 ml	Tapón verde: solución incolora. Contiene: suero humano (diluido), azida sódica <0,1 % (conservante)	SÍ
*** EBIFA**	Azul de Evans 0,2 %	1 x	1,5 ml	Tapón blanco: solución de color azul Contiene: PBS, azul de Evans. Diluya el azul de Evans 0,2 % a 1:3000 en 1 WBIFA	NO
MMIFA	Medio de montaje	1 x	8 ml	Validado para su uso con HELMED® Tapón blanco: solución incolora. Contiene: PBS, glicerina.	SÍ
WBIFA	Solución de tampón para lavado (10x)	1 x	100 ml	Tapón blanco: solución incolora. Diluya la solución de tampón concentrada a 1:10 en agua destilada (por ejemplo: 100 ml + 900 ml). Contiene: PBS, azida sódica (conservante).	NO
SBIFA	Solución de tampón para muestra	1 x	70 ml	Tapón blanco: solución incolora. para la dilución de los sueros de paciente Contiene: BSA, PBS, azida sódica (conservante).	SÍ

Las cantidades son por kit. (*) debe pedirse por separado.

c. Materiales necesarios no suministrados

1. Agua destilada
2. Tubos de ensayo para dilución de muestras
3. Frasco para medición
4. Pipeta volumétrica
5. Temporizador
6. Microscopio de fluorescencia con sistema FITC, (filtro de excitación de 490 nm, filtro de barrera de 510 nm)
7. Bandeja de incubadora
8. Plato de tinciones
9. Puntas de pipeteado
10. Cubreobjetos (24 x 60 mm)
11. exprimir frasco lavador

En caso de que observe defectos o datos incorrectos en la información del producto, incluidas las etiquetas, póngase en contacto con el fabricante o proveedor del producto.

9. ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL

Almacene todos los reactivos entre 2-8 °C / 35,6-46,4 °F, protegidos de la luz intensa. La fecha de caducidad de cada componente se indica en la etiqueta correspondiente. No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad.

Almacene todos los reactivos y los portaobjetos entre 2-8 °C / 35,6-46,4 °F, en los contenedores originales. Una vez preparadas, las soluciones reconstituidas permanecen estables durante al menos una semana a una temperatura entre 2-8 °C / 35,6-46,4 °F. **Los reactivos y los portaobjetos deben usarse sólo antes de la fecha de caducidad que figura en cada componente.**

10. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

d. Riesgos para la salud

ESTE PRODUCTO DEBE UTILIZARSE SÓLO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO. Sólo el personal capacitado y específicamente informado sobre métodos de diagnóstico in vitro puede usar el kit. Los reactivos contenidos en este producto no se consideran tóxicos ni peligrosos cuando se usan según las instrucciones; a pesar de ello, para garantizar la máxima seguridad para el usuario respete las siguientes:

Recomendaciones y precauciones

Este kit contiene reactivos potencialmente peligrosos. Aunque los reactivos del kit no están clasificados como irritantes de la piel y los ojos, se recomienda evitar el contacto con los mismos y usar guantes desechables.

Todo el material de origen humano utilizado para algunos de los reactivos de este kit (por ejemplo, controles) se ha analizado mediante métodos aprobados y ha resultado negativo para HbsAg, hepatitis C y VIH. Sin embargo, en el caso de material de origen humano, no se puede garantizar la ausencia completa de virus. Por consiguiente, los controles del kit y las muestras de pacientes deben considerarse potencialmente infecciosos y deben manipularse de acuerdo con los requisitos nacionales.

El kit contiene material de origen animal (BSA, Inmunoglobulina) como se indica en la tabla de contenidos, proceda de acuerdo con la normativa de su país.

e. Instrucciones generales

1. No pipetee con la boca. No fume, coma ni beba mientras trabaja con el kit.
2. No mezcle reactivos ni instrumental provenientes de diferentes números de lote. Esto puede conducir a alteraciones en los resultados de la prueba.
3. Mantenga todos los recipientes herméticamente cerrados después de usarlos, para evitar la contaminación bacteriana.
4. Siempre use puntas para pipeta estériles y nuevas para todos los componentes.
5. Nunca exponga los componentes a temperaturas superiores a 37°C / 98,6°F (excepto MMIFA).
6. Nunca deje secar los portaobjetos durante el procedimiento.
7. Nunca congele los portaobjetos.

Se aconseja que cada laboratorio establezca sus propios valores normales, de acuerdo con sus propias técnicas, controles, equipos y población de pacientes.

No puede hacerse un diagnóstico clínico definitivo sólo sobre la base de los resultados del análisis efectuado, sino que debe ser realizado por el médico después de evaluar todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.

Si los resultados del ensayo no se encuentran en el intervalo aceptable de los controles, el test no es válido y debe repetirse. Debe comprobar lo siguiente: fecha de caducidad de los reactivos (preparados), condiciones de conservación, pipetas y cualquier otro material utilizado, fotómetro, tiempos de incubación y métodos de lavado. Si tras comprobar los aspectos previos no ha detectado ningún error, le rogamos que contacte con el fabricante o su proveedor.

11. OBTENCIÓN, PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

Preparación de las muestras: Se recomienda usar muestras de suero recién obtenidas. La extracción de sangre debe hacerse observando los requisitos nacionales. Tome las muestras de sangre de forma aséptica.

No usar muestras lipémicas, ictéricas, hemolizadas o contaminadas con bacterias.

Se debe eliminar el material particulado del suero por centrifugación a baja velocidad (<1000 x g). Las muestras de sangre deben recogerse en tubos limpios, secos y vacíos. Después de la separación, las muestras de suero deben usarse directamente durante las primeras 8 horas, almacenarse bien cerradas entre 2-8 °C / 35,6-46,4 °F por un máximo de 2 semanas o congelarse a -20 °C / -4 °F para conservarlas durante periodos más prolongados. Evite los ciclos repetidos de congelación y descongelación.

12. PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

f. Preparación

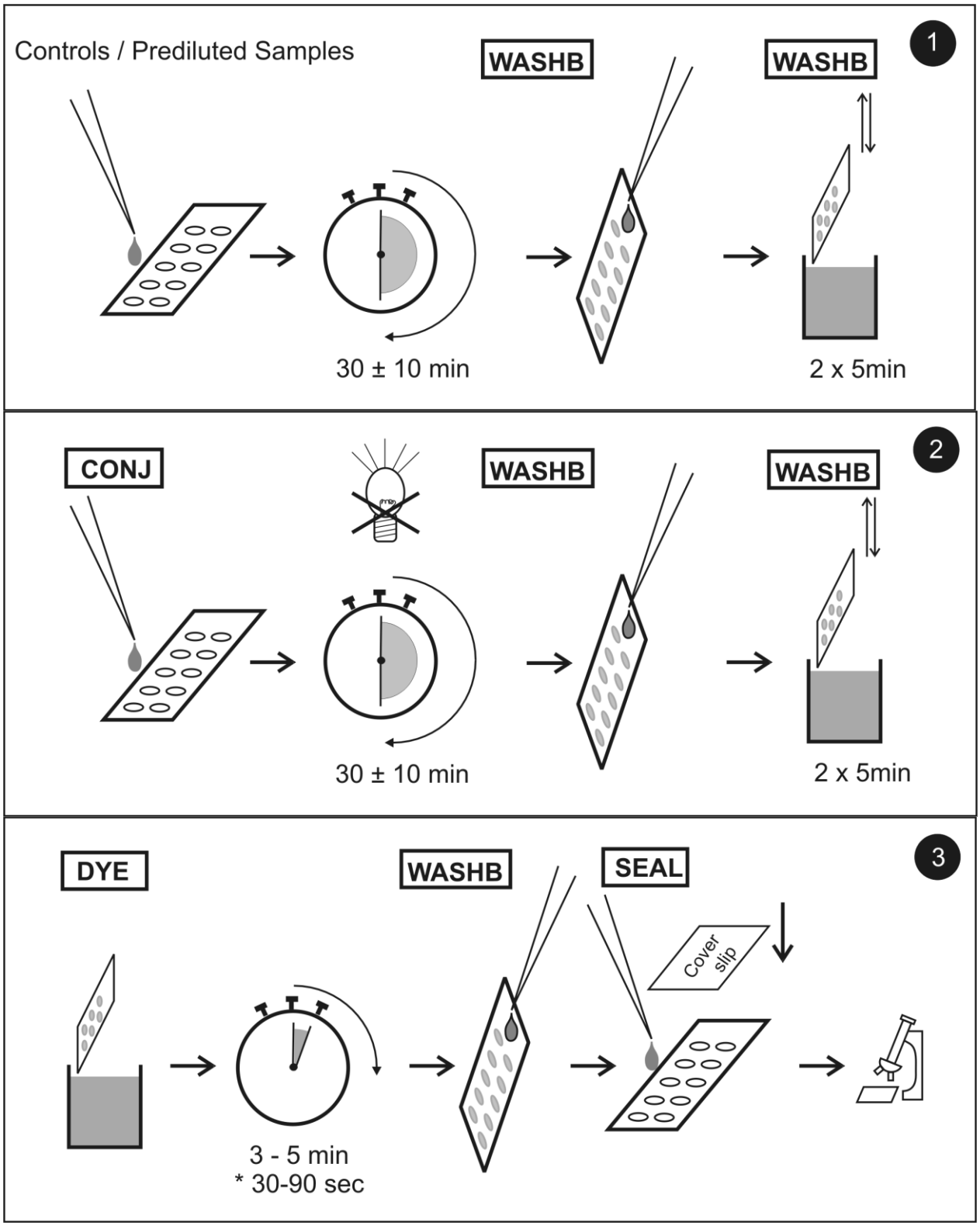
Deje que todos los componentes lleguen a temperatura ambiente (20-26 °C / 68-78.8 °F) antes de usarlos, mézclelos bien y siga el esquema de incubación recomendado para obtener un rendimiento óptimo de la prueba.

1. Preparación de la solución de tampón para lavado: diluya la solución de tampón concentrada a 1:10 con agua destilada.
2. Dilución de las muestras: diluya el suero del paciente (para ver el título de tamizaje, consulte la sección ***Procedimiento con el kit*** anterior, de acuerdo con la referencia de producto que esté utilizando) con 1 solución de tampón para muestra. Varían entre los kits de HEp-2, ADNn, rLKS, EMA, etc.
3. Los controles están listos para usarse.
4. Preparación de un protocolo: las hojas de interpretación de datos están disponibles en la sección ***Procedimiento con el kit*** de acuerdo con la referencia del producto que esté utilizando.
5. En caso de aumento de la viscosidad o la opacidad, el reactivo de medio de montaje (MMIFA) debe calentarse en un baño de agua durante 15 minutos a 56 °C / 132,8 ° F y después debe dejarse que alcance la temperatura ambiente (20-26 °C / 68-78,8 °F) Tras este procedimiento, el reactivo calentado se puede utilizar hasta 21 días consecutivos, suponiendo que se almacene a entre 2-8 °C / 35,6-46,4 °F, como se indica en la etiqueta del reactivo y en las instrucciones de uso.

g. Procedimiento de la prueba

N.º	Descripción del paso
1.	Extraiga los portaobjetos necesarios de sus envases y rotúlelos. No toque la capa de tejidos o células. Nunca deje secar los portaobjetos.
2.	**Preparación de la bandeja de la incubadora:** Coloque una pequeña cantidad de agua desionizada o destilada en una cámara de incubación y coloque las láminas sobre los soportes adecuados dentro de ésta. Incube la lamina (s) 30 ± 10 minutos a temperatura ambiente en la cámara de incubación húmeda. Utilice tiempos de incubación consistentes con el conjugado. **Primera incubación:** Pipetee un volumen adecuado de cada suero diluido y controles (listos para usarse) en los pocillos adecuados. Evite el contacto directo de la pipeta con la superficie del portaobjetos. Asegúrese de que cada área de prueba quede cubierta por completo con el suero o el control correspondientes. Es importante usar la cantidad de material a probar suficiente para cubrir por completo cada pocillo. Pero debe evitarse que se mezclen entre ellos, ya que esto puede producir resultados incorrectos.
3.	**Lavado**: Después de la incubación, remueva las láminas de la cámara de incubación y lávelas brevemente con tampón de lavado usando un frasco lavador. No aplique directamente el chorro del tampón sobre los pozos NOTA: Para evitar contaminación cruzada, incline levemente la lámina primero hacia una fila y lave cuidadosamente con el chorro de tampón de lavado a lo largo de la línea media de la lámina, esto permite que el tampón de lavado salga fuera del borde inferior de la lámina. Luego incline la lámina hacia la otra fila, y repita este procedimiento con el tampón de lavado. Lave la lámina (s) 10 minutos con tampón de lavado en un plato de tinción de portaobjetos. Evite el contacto directo de los elementos sólidos con el sustrato. Para obtener resultados óptimos cambie la solución de tampón de lavado una vez, después de 5 minutos de incubación. Levante la lámina (s) del plato tinción y retire con cuidado el exceso de tampón de lavado. NOTA: Es importante que los pocillos del portaobjetos no se sequen durante el procedimiento, ya que eso puede provocar daños en el sustrato. Por favor,no seque el portaobjetos con papel absorbente ni de cualquier otra manera, no permita que la lámina quede sin reactivo de anticuerpos fluorescentes durante más de unos pocos segundos.
4.	**Segunda incubación**: Después del lavado, coloque los portaobjetos de inmediato en la cámara húmeda y cubra todas las zonas de prueba con una cantidad suficiente del conjugado marcado con FITC, de tal forma que la zona de prueba esté totalmente cubierta. Incube la lamina (s) 30 ± 10 minutos a temperatura ambiente en oscuridad.
5.	**Lavado:** Después de la incubación, remueva las láminas de la cámara de incubación y lávelas brevemente con tampón de lavado usando el frasco lavador. No aplique directamente el chorro del tampón sobre los pozos. Lave la lámina (s) 10 minutos con tampón de lavado en un plato de tinción de portaobjetos. Evite el contacto directo de los elementos sólidos con el sustrato. Para obtener resultados óptimos cambie la solución de tampón de lavado una vez después de 5 minutos de incubación.
6.	***Tinción de contraste optativa**: Diluya el colorante de contraste (azul de Evans) 1:3000 en tampón para lavado y mezcle bien. Vierta el colorante de contraste en un plato de tinciones e incube en él los portaobjetos. Consulte la sección Procedimiento con el kit anterior con la referencia del producto que esté usando para obtener detalles sobre el tiempo de incubación. El azul de Evans oculta la fluorescencia inespecífica de fondo. Retire los portaobjetos una vez transcurrido el tiempo de incubación y enjuáguelos brevemente con tampón de lavado. Elimine cuidadosamente el exceso de tampón de lavado. No seque los portaobjetos con papel absorbente; asimismo, nunca deben someterse a este tipo de secado.
7.	**Montaje**: Coloque un volumen adecuado de medio de montaje (Mounting Medium) a lo largo de la línea media del portaobjetos. Coloque cuidadosamente un cubreobjetos sobre el medio de montaje, evitando formar burbujas de aire.
8.	**Observación microscópica**: Lea los portaobjetos de inmediato con un aumento total de 400 a 800 x en un microscopio de fluorescencia (filtro excitador de 490 nm, filtro barrera de 510 nm).

h. Flujo de trabajo



13. SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

ERROR	CAUSAS POSIBLES	SOLUCIÓN
Baja densidad celular	• Lisis celular por contacto prolongado con agua desionizada. • Tampón vertido directamente sobre las células	Observe el procedimiento de lavado
	Enzimas proteolíticas han atacado al sustrato	Inactive el suero
Fluorescencia irregular	El suero se ha secado en el pocillo, fluorescencia más intensa en los bordes	Incubar siempre en un medio ambiente húmedo
	El suero no cubrió el área de prueba	Coloque un volumen adecuado de material a probar
	Reacción cruzada entre áreas de prueba	Evite que se mezcle el contenido de las áreas de prueba durante la primera incubación Use un lápiz de grafito
	El rotulado del portaobjetos con un lápiz de cera produjo una película sobre el portaobjetos	Use un lápiz de grafito
	Microscopio regulado de forma incorrecta	Verifique la vida útil de la lámpara UV
Imagen difusa	Los portaobjetos se almacenaron en el refrigerador sin taparlos	Selle el portaobjetos con laca de uñas o cera de parafina
	El microscopio de fluorescencia está sucio. Posiblemente las lentes están rayadas	Limpie el microscopio de acuerdo con sus instrucciones de mantenimiento
Poca fluorescencia o ninguna	Conjugado y portaobjetos descongelados y vueltos a congelar	Almacenar el conjugado y los portaobjetos entre 2-8 °C / 35,6-46,4 °F.
	Controles diluidos	Lea las instrucciones, use los controles listos para usar del kit
	• Contaminación bacteriana de los sueros o del conjugado • Microscopio no regulado • pH del tampón de lavado demasiado bajo (pH 7,4 ± 0,2)	Verifique las condiciones de la prueba
	El conjugado FITC se ha expuesto a la luz	Almacene el conjugado protegido de la luz
Fluorescencia de fondo	• Lavado incorrecto • El portaobjetos se ha secado • Sueros lipémicos o hemolizados • Error del microscopio	• Revise las instrucciones de lavado • No deje que los portaobjetos se sequen • Use sólo sueros recién obtenidos • Verifique que el filtro y el objetivo sean los correctos

14. SÍMBOLOS REGLAMENTARIOS

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	