AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKUSLIDES®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

MANUEL D'INSTRUCTIONS

AESKUSLIDES® nDNA

Ref 53.100

CE

AESKUSLIDES®
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



eIFU
WWW.AESKU.COM

MANUEL D'INSTRUCTIONS

nDNA (*Crithidia luciliae*)

Réf. standard	Description	Tests
53.100	**nDNA** (10 puits)	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

Table des matières

1. USAGE PRÉVU 1
2. APPLICATIONS CLINIQUES ET PRINCIPE DU TEST 1
3. PROCÉDURE DE TEST AVEC LE KIT 2
4. INTERPRÉTATION 2
5. CARACTÉRISTIQUES SPÉCIFIQUES DE RENDEMENT 3
5.1. Sensibilité/spécificité 3
a. Tableau 1 : Ensemble de données combinées des intervalles de confiance 3
5.2. Reproductibilité et précision 3
6. FICHE D'INTERPRÉTATION DES DONNÉES 4
7. CONTENU DU KIT STANDARD 5
8. RÉACTIFS COMMUNS 6
b. Réactifs communs 6
c. Matériel nécessaire mais non fourni 6
9. STOCKAGE ET DURÉE DE CONSERVATION 7
10. PRÉCAUTIONS D'EMPLOI 7
d. Données relatives aux risques pour la santé 7
e. Règles générales pour l'utilisation 7
11. RECUEIL D'ÉCHANTILLONS, MANIPULATION ET STOCKAGE 8
12. PROCÉDURE DU TEST 8
f. Préparation 8
g. Réalisation du test 9
h. Procédure 10
13. DÉPANNAGE 11
14. SYMBOLES RÉGLEMENTAIRES 12

nDNA (*Crithidia luciliae*)

1. USAGE PRÉVU

***AESKUSLIDES*® nDNA (*Crithidia luciliae*)** est un test d'immunofluorescence indirecte qui permet de détecter des anticorps IgG contre l'ADN natif à double hélice dans le sérum humain. Le kit de test est réservé à un usage professionnel dans les laboratoires.

2. APPLICATIONS CLINIQUES ET PRINCIPE DU TEST

Les anticorps qui se lient à l'ADN appartiennent au groupe des anticorps antinucléaires (ANA) qui ont été observés dans plusieurs maladies autoimmunes. Les anticorps qui réagissent à l'ADN natif à deux brins sont considérés comme étant spécifiques du lupus érythémateux systémique (LES) et ont été observés chez approximativement 50-80% des patients. Les anticorps dirigés contre l'ADN double brin (en anglais double stranded DNA, d'où l'abréviation dsDNA) s'observent durant les phases actives du LES. La concentration dans le sérum est en corrélation positive avec la gravité de la maladie. De ce fait, la détection de ces autoanticorps est importante pour le diagnostic et le monitoring clinique du LES. Par conséquent, elle a été établie comme l'un des 11 critères de l'ACR (American College of Rheumatology) pour le diagnostic du LES. La plupart des patients atteints de LES montrent des anticorps anti-ADN double brin de la classe IgG. Ces autoanticorps sont associés à la néphropathie lupique (en anglais lupus nephritis). Approximativement 30% des patients atteints de LES développent en plus des anticorps anti-ADN double brin de la classe IgA. Il a été suggéré que la présence de ces anticorps anti-ADN double brin de la classe IgA peut éventuellement définir un certain sous-groupe de patients atteints de LES. En effet, il y a des études qui ont démontré l'association de cette sous-catégorie avec certains paramètres de l'activité de la maladie, comme par exemple un taux élevé de sédimentation des érythrocytes ou la consommation des composants du complément C3, ainsi que les paramètres cliniques de vascularite cutanée (en anglais cutaneous vasculitis), de nécrose acrale et d'érythème. Aucune association n'a été constatée en ce qui concerne la néphropathie et l'arthrite.

Les anticorps anti-ADN double brin de la classe IgM ont été trouvés dans le sérum de 52% des patients atteints de LES. Contrairement aux autoanticorps de la classe IgG et IgA, les anticorps de la sous-catégorie IgM ne sont pas en corrélation avec l'activité de la maladie. Cependant, une corrélation négative hautement significative a été démontrée entre les anticorps anti-ADN double brin de la classe IgM et la néphropathie lupique (lupus nephritis), incluant ses paramètres de laboratoire. Donc les anticorps anti-ADN double brin de la classe IgM peuvent indiquer une sous-catégorie de patients atteints de lupus qui sont protégés contre le risque de développer une néphropathie (en anglais nephritis).

Caractérisation de l'antigène: ADN mitrochondrial de *Crithidia luciliae*

Réactions croisées: pas de réactions croisées connues.

Le test repose sur le principe de l'immunofluorescence indirecte (IFI): Les lames sont recouvertes de coupes de tissus ou de cellules (HEp2 pour la détection des ANA (anticorps antinucléaires), granulocytes pour la détection des ANCA (anti-neutrophil cytoplasmic antibodies) ou *Crithidia luciliae* pour la détection d'anticorps anti-ADN natif). Si le sérum du patient contient des anticorps contre des éléments des tissus ou cellules, ceux-ci se fixent au substrat correspondant sur la lame lors de la première étape d'incubation. Les éléments du sérum non fixés sont éliminés par lavage. Les anticorps du patient fixés sont révélés lors d'une deuxième étape d'incubation par des anticorps anti-immunoglobulines humaines marqués à la fluorescéine, qui se fixent aux anticorps du patient fixés et les rendent visibles grâce à leur colorant fluorescent. Il en résulte une fluorescence spécifique verte des complexes antigène-anticorps, qui deviennent visibles au microscope à immunofluorescence.

3. PROCÉDURE DE TEST AVEC LE KIT

Consulter la Procédure de test du Instructions commun, section 12 pour des instructions détaillées. Les précisions suivantes se rapportent aux kits nDNA :

- Temps de contre-coloration : 30-90 secondes
- Dilution de dépistage recommandée :
  - 1:10

4. INTERPRÉTATION

Crithidia luciliae possède une mitochondrie géante, également appelée cinétoplaste, qui ne contient que de l'ADNds.

En présence d'anticorps anti-ADNn, on aperçoit une fluorescence homogène du cinétoplaste ou plutôt dans le noyau et le cinétoplaste, qui se trouve entre le noyau et le corpuscule basal à proximité du flagelle.

Toujours procéder à l'évaluation avec les contrôles positifs et négatifs.

L'échantillon est considéré négatif pour l'ADNn si la fluorescence du corpuscule basal se produit à proximité de la naissance du flagelle ou uniquement dans le noyau et s'il n'y a pas d'anticorps spécifiques pour l'ADNn.

Exemples de dilution:

1:10	10 µL de sérum	+	90 µL de tampon d'échantillon
1:20	10 µL de sérum	+	190 µL de tampon d'échantillon
1:40	10 µL de sérum	+	390 µL de tampon d'échantillon
1:80	10 µL de sérum	+	790 µL de tampon d'échantillon

etc.

L'immunofluorescence présente un motif caractéristique de double point en présence d'anticorps anti-ADNds, alors que seul le noyau devient fluorescent en présence d'anticorps anti-non ADNds nucléaires (avec une spécificité de 95 %, l'ADNds est un auto-antigène important du lupus érythémateux disséminé (SLE)).

Chez les patients atteints de SLE, on peut observer des anticorps dirigés contre divers antigènes nucléaires. La plus forte corrélation avec cette maladie est démontrée par l'anticorps Sm (glycoprotéine), qui apparaît sous forme de motif tacheté dans le noyau des cellules HEp-2 et l'anticorps anti-ADNn (motif périphérique ou homogène dans les cellules HEp-2).

Les anticorps anti-ADN natif double hélice sont très spécifiques du SLE. Bien qu'il soit possible d'observer de faibles taux d'anticorps anti-ADNn dans d'autres pathologies, notamment le syndrome de Sjögren, la connectivite mixte et la dermatomyosite, on constate des taux élevés quasi-exclusivement en cas SLE.[1]

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

5. CARACTÉRISTIQUES SPÉCIFIQUES DE RENDEMENT

5.1. Sensibilité/spécificité

***AESKUSLIDES*® nDNA** a été comparé à un autre système de test d'immunofluorescence indirecte existant sur le marché et faisant appel à *Crithidia luciliae*. Le sérum de 297 patients atteints de LED et le sérum de 479 patients atteints d'autres maladies (témoins non sains) ont été analysés manuellement et évalués au moyen de deux lecteurs. La détermination des échantillons positifs a été effectuée à partir d'une dilution seuil de 1:10. Les échantillons cliniques représentaient un spectre complet de maladies auto-immunes.

La comparaison avec ***AESKUSLIDES*® nDNA** a permis d'obtenir les résultats suivants :

a. Tableau 1 : Ensemble de données combinées des intervalles de confiance

		Prédicat		
		Positif	Négatif	Total
***AESKUSLIDES*® nDNA**	Positif	79	14	93
	Négatif	108	575	683
	Total	187	589	776

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

Les intervalles de confiance à 95 % correspondent à ceux de la méthode des scores de Wilson[2].

5.2. Reproductibilité et précision

Des études intra-laboratoires et inter-laboratoires ont été réalisées pour démontrer la reproductibilité du test ***AESKUSLIDES*® nDNA**. 11 échantillons de sérum ont été analysés sur ***AESKUSLIDES*® nDNA** sur cinq jours, à raison de deux séries par jour et de trois répétitions par série sur trois sites d'étude. L'ensemble des échantillons, y compris les échantillons négatifs et les échantillons faiblement, moyennement et fortement positifs, ont été traités manuellement à l'aide du **HELIOS® Automated IFA System**, et évalués au moyen de deux lecteurs. Les concordances positives et négatives étaient ≥ 90 %. Des fluorescences d'intensité constante ont été observées sur tous les puits testés.

[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. FICHE D'INTERPRÉTATION DES DONNÉES

nDNA

Date:	Lot:
Lame nº:	Opérateur:

N° de puits	ID	Facteur de dilution	Indice de fluorescence	Noyau	Cinétoplaste	Corpuscule basal	Résultats	Commentaires
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								

7. CONTENU DU KIT STANDARD

		LAMES				CONJUGUÉ			CONTRÔLE POSITIF		
Réf. du kit	**Description du kit**	**Réf.**	**Puits**	**Revêtement**	**Quantité**	**Réf.**	**Description**	**Quantité**	**Réf.**	**Description**	**Quantité**
53.100	**nDNA** (10 puits)	**S53.100**	10	Cellules de *Crithidia luciliae*	10 x	**C53.100**	**IgG** Capuchon bleu : solution légèrement bleue. Contenu : BSA, anticorps antihumains marqués à la fluorescéine (FITC)	1 x 5 ml	**PC53.100**	Contrôle positif d'ADNn. Capuchon rouge : solution incolore. Contenu : sérum humain (dilué), azoture de sodium < 0,1 % (conservateur)	1 x 0,5 ml

REMARQUE : Les autres composants des kits, notamment les réactifs communs (contrôles négatifs, milieu de montage, etc.) sont décrits ci-dessous, dans la section 8 RÉACTIFS COMMUNS.

8. RÉACTIFS COMMUNS

b. Réactifs communs

Réf.	Réactif	Quantité / Volume		Description	Prêt à l'emploi
NCIFA	Contrôle négatif	1 x	0,5 ml	Capuchon vert : solution incolore. Contenu : sérum humain (dilué), azoture de sodium < 0,1 % (conservateur)	OUI
*** EBIFA**	Bleu d'Evans 0,2 %	1 x	1,5 ml	Capuchon banc : solution bleue Contenu : PBS, bleu d'Evans. Diluer le bleu d'Evans 0,2 % selon une proportion 1:3000 dans 1 WBIFA	NON
MMIFA	Milieu de montage	1 x	8 ml	Validé pour une utilisation avec HELMED® Capuchon banc : solution incolore Contenu : PBS, glycérine.	OUI
WBIFA	Tampon de Lavage (10x)	1 x	100 ml	Capuchon banc : solution incolore Diluer le tampon concentré selon une proportion 1:10 dans de l'eau distillée (par ex. 100 mL + 900 mL). Contenu : PBS, azoture de de sodium (conservateur).	NON
SBIFA	Tampon de Echantillons (1x)	1 x	70 ml	Capuchon banc : solution incolore pour la dilution des sérums de patients Contenu : BSA, PBS, azoture de de sodium (conservateur).	OUI

Les quantités sont indiquées par kit. (*)doivent être commandés séparément.

c. Matériel nécessaire mais non fourni

1. Eau distillée
2. Tubes à essai pour la dilution des échantillons
3. Fiole jaugée
4. Pipette volumétrique
5. Minuteur
6. Microscope à fluorescence doté d'un système FITC (filtre d'excitation à 490 nm, filtre écran à 510 nm)
7. Plateau d'incubation
8. Cuve de coloration
9. Pointes de pipetage
10. Lames couvre-objet (24 x 60 mm)
11. presser pissette

Si les informations sur le produit, y compris l'étiquetage, sont défectueuses ou incorrectes, contacter le fabricant ou le fournisseur du kit de test.

9. STOCKAGE ET DURÉE DE CONSERVATION

Conserver tous les réactifs à une température de 2-8 °C / 35,6-46,4 °F, à l'abri de la lumière intense. La date de péremption de chaque composant est indiquée sur l'étiquette correspondante. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption.

Conserver tous les réactifs et les lames à une température de 2-8 °C / 35,6-46,4 °F, dans leurs conteneurs d'origine. Une fois préparées, les solutions reconstituées sont stables pendant au moins 1 semaine à une température de 2-8 °C / 35,6-46,4 °F. **Les réactifs et les lames doivent être utilisés avant la date de péremption indiquée sur chaque composant**.

10. PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

d. Données relatives aux risques pour la santé

CE PRODUIT EST EXCLUSIVEMENT RESERVE A UN USAGE DIAGNOSTIQUE IN VITRO. Seul un personnel qualifié et spécialement formé dans le domaine du diagnostic in vitro peut utiliser ce kit. Bien que les réactifs contenus dans ce kit ne soient pas considérés toxiques ou dangereux pour la santé si les conditions d'usage sont respectées, les recommandations et précautions suivantes doivent être observées pour la sécurité maximale de l'utilisateur:

Recommandations et précautions

Ce kit contient des composants potentiellement dangereux. Bien que les réactifs du kit ne soient pas classé comme irritants pour les yeux et la peau, il est recommandé d'éviter tout contact avec les yeux et la peau et de porter des gants jetables.

Toutes les substances d'origine humaine utilisées dans certains réactifs de ce kit (contrôles, par exemple) ont été analysées avec des méthodes homologuées et les résultats ont montré qu'elles étaient négatives en ce qui concerne l'antigène de surface de l'hépatite B (AgHBs), le virus de l'hépatite C et le VIH. Toutefois, aucun test ne peut garantir l'absence complète d'agents viraux dans ces substances. Par conséquent, il est nécessaire de manipuler les contrôles du kit et les échantillons de patients comme s'il s'agissait de transmetteurs potentiels de maladies infectieuses et conformément aux conditions requises au niveau national.

Le kit de cet essai contient du matériel d'origine animale (BSA, immunoglobuline) comme l'indique le chapitre „contenu du kit", veuillez l'utiliser conformément aux conditions requises au niveau national.

e. Règles générales pour l'utilisation

1. Ne pas pipeter avec la bouche. Ne pas manger, boire ou fumer pendant le travail avec ce kit.
2. Ne pas mélanger ou substituer des réactifs ou lames de lots différents. Cela pourrait conduire à une variation des résultats.
3. Bien refermer tous les flacons après l'emploi pour éviter les contaminations bactériennes.
4. Toujours pipeter chaque composant avec des nouveaux embouts stériles.
5. Ne jamais exposer les composants de ce kit à une température supérieure à 37°C / 98,6°F (sauf MMIFA).
6. Toujours veiller à ce que les lames ne sèchent pas tout au long du déroulement de ce test.
7. Ne jamais congeler les lames!

Chaque laboratoire devrait établir son propre domaine normal basé sur ses propres techniques, contrôles, équipement et population de patients selon ses propres procédures établies.

Un diagnostic clinique définitif ne doit pas être basé uniquement sur les résultats de l'essai réalisé, mais il doit être élaboré par le médecin après avoir évalué tous les résultats cliniques et des laboratoires.

Si les résultats de l'essai ne se trouvent pas dans la plage de valeurs acceptables définie par le matériel de contrôle, le test n'est pas valable et doit être répété. Veuillez vérifier les éléments suivants : la date de péremption des réactifs (employés), les conditions de stockage, les pipettes et autre matériel utilisé, le photomètre, les temps d'incubation et la méthode de lavage.

Si vous n'avez pas décelé d'erreur lors de la vérification des éléments cités ci-dessus, veuillez contacter le fabricant ou le fournisseur du kit.

11. RECUEIL D'ÉCHANTILLONS, MANIPULATION ET STOCKAGE

Utiliser de préférence des échantillons de sérum frais ou récemment prélevés. L'extraction de sang doit être conforme aux conditions requises au niveau national. Prélever les échantillons de sang de manière aseptique.

Ne pas utiliser d'échantillons lipémiques, ictériques, hémolysés ou contaminés par des bactéries.

Les sérums avec des particules doivent être purifiés par centrifugation à basse vitesse (<1000 x g). Les échantillons de sang doivent être recueillis dans des tubes propres, secs et vides. Après la séparation, les échantillons de sérum doivent être utilisés dans les 8 heures. Ils peuvent être stockés jusqu'à deux semaines bien fermés à une température comprise entre 2-8°C / 35,6-46,4°F ou congelés à -20 °C / -4 °F pour les périodes plus longues. Éviter les congélations et décongélations répétées.

12. PROCÉDURE DU TEST

f. Préparation

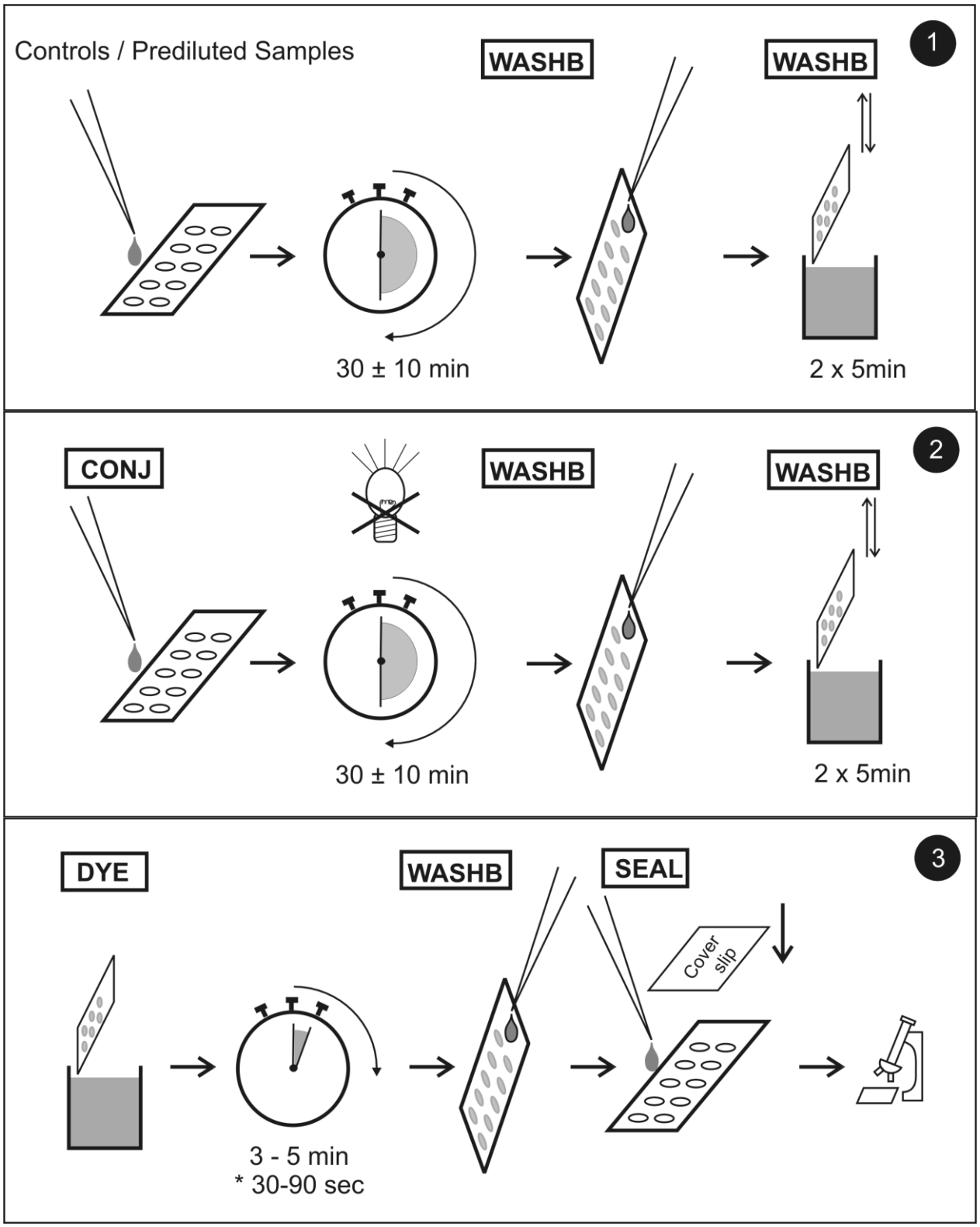
Amener tous les composants à température ambiante (20-26 °C / 68-78,8 °F) avant usage et bien les mélanger. Respecter le temps d'incubation recommandé pour chaque composant afin d'obtenir un résultat optimal.

1. Préparation de Tampon de Lavage: diluer le tampon concentré à 1:10 avec de l'eau distillée.
2. Dilution des échantillons : diluer le sérum du patient (pour la concentration de dépistage, se reporter à la section ***Procédure de test avec le kit*** ci-dessus en fonction de la référence de produit utilisé) avec un tampon d'échantillon 1x. Les concentrations des kits HEp-2, nDNA, rLKS, EMA, etc. sont différentes.
3. Les contrôles sont prêts à l'emploi.
4. Élaborer un protocole : les fiches d'interprétation des données sont disponibles dans la section ***Procédure de test avec le kit*** en fonction de la référence de produit utilisée.
5. En cas d'augmentation de la viscosité et/ou de l'opacité, le réactif et milieu de montage MMIFA doit être chauffé au bain-marie pendant 15 minutes à 56 °C / 132,8 °F, puis amené à température ambiante (20-26 °C / 68-78,8 °F) avant utilisation. Après cette procédure, le réactif chauffé peut être utilisé pendant 21 jours consécutifs à condition d'être conservé entre 2-8 °C / 35,6-46,4 °F, tel que précisé sur l'étiquette et dans le mode d'emploi du réactif.

g. Réalisation du test

N°	Description des étapes
1.	Compter le nombre de lames qu'il faudra pour réaliser le test. Retirer les lames nécessaires de leur emballage de protection et les marquer à l'aide d'un crayon. Éviter de toucher les puits. Veiller à ce que les lames ne sèchent pas tout au long du déroulement du test.
2.	**Préparation du Plateau d'incubation:** Placez un petit volume d'eau déminéralisée ou déionisée dans un plateau d'incubateur et placez la lame(s) sur les supports dans le plateau d'incubateur. Incuber les lames 30 ± 10 minutes à température ambiante dans le plateau d'incubation humide. Utiliser des temps d'incubation du conjugué cohérents. **Première incubation:** Pipeter une quantité suffisante de chaque sérum dilué et de contrôles (prêts à l'emploi) dans les puits appropriés ; éviter tout contact direct de la pipette avec la surface de la lame. Éviter un contact direct de l'embout de la pipette avec la surface de la lame. S'assurer que chaque puits est complètement recouvert avec le sérum correspondant ou le contrôle. Pour cela, il est important d'utiliser autant de matériel qu'il sera nécessaire. Mais éviter le débordement des échantillons de sérum entre les puits, car cela peut fausser les résultats.
3.	**Lavage :** Après incubation, retirer les lames du plateau d'incubation et rincer brièvement avec le tampon de lavage en utilisant une bouteille de lavage à pression. Ne pas injecter de tampon directement sur les puits. NOTEZ : Afin de prévenir les contaminations croisées incliner d'abord les lames sur un côté, puis appliquer un courant de tampon de lavage délicatement le long du milieu de la lame. Puis incliner la lame sur l'autre côté et répéter cette procédure de lavage. Laver les lames 10 minutes avec les tampon de lavage dans un bac de marquage de lames. Eviter tout contact d'élements solides avec le substrat. Pour un résultat optimal changer la solution de tampon après 5 minutes. Retirer les lames du bac et retirer délicatement l'excès de tampon de lavage. NOTEZ : Il est important que les puits des lames de s'assèchent pas durant la procédure car cela peut endommager le substrat. Merci de ne pas sécher la lame ou la laisser sans réactif fluorescent plus de quelques secondes.
4.	**Deuxième incubation**: Après le lavage, remettre immédiatement la lame dans la chambre humide et recouvrir chaque puits avec 30 µl de conjugué FITC prêt à l'emploi. Incuber les lames 30 ± 10 minutes à température ambiante dans l'obscurité
5.	**Lavage:** Après incubation, retirer les lames du plateau d'incubation et rincer brièvement avec le tampon de lavage en utilisant une bouteille de lavage à pression. Ne pas injecter de tampon directement sur les puits.Laver les lames 10 minutes avec les tampon de lavage dans un bac de marquage de lames. Pour un résultat optimal changer la solution de tampon après 5 minutes.
6.	***Contre-coloration facultative :** Diluer le contre-colorant (Bleu d'Evans) dans une proportion 1:3000 dans le tampon de lavage et bien mélanger. Incliner le contre-colorant dans le bac de coloration et incuber les lames dedans. Se reporter à la section ***Procédure de test avec le kit*** ci-dessus en fonction de la référence produit utilisée pour obtenir des détails sur la durée de l'incubation. Le Bleu d'Evans couvre une fluorescence de fond non spécifique. Après le temps d'incubation, retirer la lame et la rincer brièvement avec la solution de lavage. Éliminer les excès de solution de lavage avec précaution. Ne pas sécher les lames avec du papier absorbant. Les lames ne doivent jamais se dessécher.
7.	**Montage**: Mettre une quantité suffisante de liquide de montage (mounting medium) le long de la ligne médiane de la lame. Faire glisser avec précaution la lamelle couvre-objet sur le liquide de montage en évitant la formation de bulles d'air.
8.	**Lecture au microscope**: Lire immédiatement la lame à l'aide d'un microscope à fluorescence avec un agrandissement de 400 à 800 fois (filtre d'excitation de 490 nm, filtre barrière de 510 nm).

h. Procédure


Controls / Prediluted Samples
WASHB
WASHB
1
30 ± 10 min
2 x 5min
CONJ
WASHB
WASHB
2
30 ± 10 min
2 x 5min
DYE
WASHB
SEAL
3
Cover slip
3 - 5 min
* 30-90 sec

13. DÉPANNAGE

ERREUR	CAUSES POSSIBLES	SOLUTION
Faible densité des cellules	Lyse des cellules due au contact avec de l'eau déionisée Tampon éclaboussé directement sur les cellules	Respecter les conditions de lavage recommandées
	Les enzymes protéolytiques ont attaqué le substrat.	Désactiver le sérum
Fluorescence irrégulière	Le sérum a séché dans les puits, la fluorescence est plus forte sur les bords	Toujours incuber dans un environnement humide
	sérum ne recouvre pas le puits	Utiliser un volume suffisant de matériel du test
	Réactions croisées entre les puits	Éviter un débordement des échantillons entre les puits lors de la première incubation
	Le marquage d'une lame avec un crayon de cire produit un film	Utiliser un crayon sans cire
	Microscope mal ajusté	Vérifier le réglage Vérifier la durée de vie de la lampe UV
Image diffuse	Lame conservée au réfrigérateur sans couvercle	Sceller la lamelle couvre-objet avec du vernis à ongles ou de la cire de paraffine
	Microscope I.F. sali. Rayures/ éraflures possibles sur la lentille	Nettoyer le microscope conformément au mode d'emploi
Faible fluorescence ou pas de fluorescence	Conjugué et lame congelés et décongelés	Conserver les conjugués et les lames à 2-8 °C / 35,6-46,4 °F
	Les contrôles ont été dilués	Vérifier le mode d'emploi, utiliser les contrôles du kit qui sont prêts à l'emploi
	• Contamination bactérienne des sérums ou conjugués • Microscope pas ajusté • Le pH de la solution de lavage est trop faible (pH: 7,4 ± 0,2)	Vérifier les conditions
	Conjugué FITC exposé à la lumière	Conserver le conjugué à l'abri de la lumière
Fluorescence de fond (background fluorescence)	• Mauvais lavage • La lame a séché • Sérums lipémiques, hémolysés • Erreur au niveau du microscope	• Vérifier les instructions de lavage • Ne jamais laisser sécher les lames • Utiliser des sérums frais • Vérifier les filtres / l'objectif

14. SYMBOLES RÉGLEMENTAIRES

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	