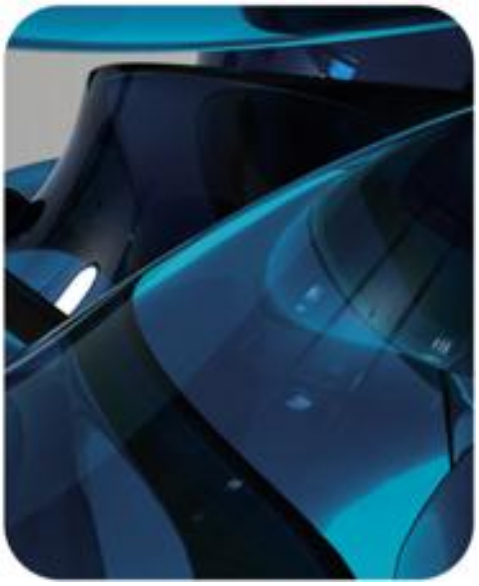
AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS





AESKUSLIDES®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

GEBRAUCHS - ANWEISUNG

AESKUSLIDES® EMA

Ref 512.xxx

CE

AESKUSLIDES®
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



GEBRAUCHSANWEISUNG

EMA (Endomysium)

Standard-Ref.	Beschreibung	Tests
512.050	**EMA IgA** (5 Kavitäten)	50
512.100	**EMA IgA** (10 Kavitäten)	100
512.060	**EMA IgG** (5 Kavitäten)	50
512.101	**EMA IgG** (10 Kavitäten)	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

Inhaltsverzeichnis

1. ZWECKBESTIMMUNG 1
2. KLINISCHE ANWENDUNG 1
3. KIT BESTANDTEILE 2
4. AUSWERTUNG 2
   a. Auswertung EMA IgA 2
   b. Auswertung EMA IgG 2
5. DATENAUSWERTUNGSBOGEN 3
6. INHALT DER KITS 4
7. INHALT DER STANDARDREAGENZIEN 5
   c. Standardreagenzien 5
   d. Zusätzlich erforderliches Material 5
8. LAGERUNG UND HALTBARKEIT 6
9. HINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN 6
   e. Gesundheitsrisiko 6
   f. Allgemeine Hinweise 6
10. PROBENENTNAHME, VORBEREITUNG UND LAGERUNG 7
11. TESTDURCHFÜHRUNG 7
   g. Vorbereitung 7
   h. Testdurchführung 8
   i. Arbeitsablauf 9
12. FEHLERBEHEBUNG 10
13. REGULATORISCHE SYMBOLE 11

EMA (Endomysium)

1. ZWECKBESTIMMUNG

***AESKUSLIDES*® EMA IgA und IgG** ist ein indirekter Immunfluoreszenztest zur Bestimmung von Autoantikörper gegen Gewebe-Transglutaminase (tTG) im humanen Serum.
Das Test-Kit ist nur für den professionellen Gebrauch in Laboren bestimmt.

2. KLINISCHE ANWENDUNG

Glutensensitive Enteropathie oder Zölliakie wird durch eine Athrophie der Dünndarmzotten, die in einer so genannten Zottenathropie ausartet, charakterisiert. Es wird durch eine pathologische Überempfindlichkeit gegenüber Glaidin, die alkohollösliche Fraktion der Glutene in Weizen, Roggen und Gerste, verursacht. Da Zölliakie durch die Verdauung von Gluten verursacht wird, folgt daraus, dass eine glutenfreie Ernährung die Krankheit komplett heilt und daher ein Leben lang beibehalten werden muss. Erneuter Verzehr von Gliadin führt zu einer Wiederkehr der Symptome. Die Krankheit ist HLA-assoziiert (>95 % der Patienten haben DQ2 enREFd (DQA1*0501 und DQB1*0201)) und manifestiert sich in jedem Alter mit dem häufigsten Einsetzen in der frühen Kindheit, sogar bei Neugeborenen. Die Inzidenzraten in europäischen Ländern betragen zwischen 1 in 4.000 und 1 in 300.
Die Diagnose von Zölliakie wird durch eine Dünndarmbiopsie (die Zottenathropie zeigt), unterstützt durch serologische Marker, festgelegt. Antikörper gegen Gliadin und Endomysiumantikörper (EMA) sind dabei von Hauptbedeutung. Sie wurden bisher durch indirekte Immunfluoreszenz festgestellt, die auf die Untergruppe IgA allein beschränkt ist. Die Identifizierung von Gewebe-Transglutaminase (tTG) als das Hauptzielantigen von EMA hat die Möglichkeit für eine einfachere und zuverlässigere Diagnose der Zölliakie geschaffen. tTG ist ein Enzym, was bei einer Verletzung von den Zellen freigesetzt wird und von dem man annimmt, dass es bei der Gewebereparatur hilft.

Anti-tTG Antikörper zeigen eine höhere Empfindlichkeit und Spezifität als Anti-Gliadin Antikörper. Desweiteren korrelieren sie eng mit der Krankheitsaktivität und sind daher besonders nützlich bei der Ernährungskontrolle. Die Feststellung von IgG-Antikörpern gegen tTG ist die einzig verfügbare spezifische Serologie für die 2 % bis 5 % von Patienten mit IgA-Mangel. Eine hohe Anzahl von subklinischen Fällen wurde durch ein Anti-tTG Screening festgestellt, was die Theorie unterstützt, dass die Mehrzahl von Zölliakiefällen unentdeckt und unbehandelt bleibt (Eisbergphänomen).[1]

Es wird beschrieben, dass Pemphigus-Patienten ein spezifisches Muster bei IIF auf Affenösophagus aufweisen.[2] Anti-Haut-Antikörper werden auf die Interzellularsubstanz gerichtet und sind charakteristisch für Pemphigus vulgaris, Pemphigus foliaceus und paraneoplastischen Pemphigus. Eine Unterscheidung zwischen den verschiedenen Pemphigus-Typen ist mit IIF nicht möglich.

[1] Matthias T et al.; Diagnostic Challenges in Celiac Disease and the Role of the Tissue Transglutaminase–Neo-Epitope. Clinic Rev Allerg Immunol. 2009; 298-301
[2] Bradwell A.R. et al.; Advanced Atlas of autoantibody patterns: Skin diseases; Birmingham: The Binding Site; 1999; 73-81

Antigen Charakterisierung Antigen Substrat : Affen Oesophagus

Kreuzreaktionen: sind unbekannt

Der Nachweis von Antikörpern basiert auf den Prinzip des indirekten Immunfluoreszenz-Assay (IIFA). Objektträger aus Glas werden mit Gewebeproben oder Zellen (Hep-2-Zellen (ANA), Granulozyten (ANCA) oder Crithidia luciliae (nDNA)) belegt. Wenn das Patientenserum spezifische Antikörper beinhaltet, binden sie während des ersten Reaktionsschrittes. Nach der Entfernung von nicht-gebundenen Komponenten durch Waschschritte, werden gebundene Antikörper durch eine Fluorescein-konjugierte anti-human Immunologin während des zweiten Reaktionsschrittes festgestellt. Eine spezifische grüne Färbung des Antigen-Antikörper Komplexes kann mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskops optisch dargestellt werden.

3. KIT BESTANDTEILE

Ausführliche Anweisungen sind im Standardhandbuch, Abschnitt 11, unter „Testverfahren" zu finden. Bei den EMA-Kits sind folgende Details zu beachten:

- Dauer der Gegenfärbung: 3-5 Minuten
- Empfohlener Screening-Titer:
  - 1:5

4. AUSWERTUNG

a. Auswertung EMA IgA

Das Endomysium ist die Stützstruktur, welche die Kombination aus Glattmuskelfasern und gestreiften Muskelfasern im mittleren Drittel des Ösophagus umgibt. Es enthält Kollagen und Retikulin sowie das bislang nicht charakterisierte Endomysium-Zielantigen.

Gliadin ist die ethanollösliche Fraktion von Gluten, dem Entzündungsantigen bei Zöliakie. Gliadin-Antikörper werden mit Zöliakie und Dermatitis herpetiformis assoziiert.

b. Auswertung EMA IgG

Der Nachweis von IgG-Antikörpern gegen tTg ist die einzige verfügbare spezifische Serologie für die 2 % bis 5 % der Patienten mit IgA-Mangel.

Verdünnungsbeispiele:

1:5	50 µL Serum	+	200 µL Probenpuffer
1:10	10 µL Serum	+	90 µL Probenpuffer
1:20	10 µL Serum	+	190 µL Probenpuffer
1:40	10 µL Serum	+	390 µL Probenpuffer
1:80	10 µL Serum	+	790 µL Probenpuffer

5. DATENAUSWERTUNGSBOGEN

EMA

Datum:	Charge:
Objektträger-Nr.:	Durchführender:

Kavität Nr.	ID	Verdünnungsfaktor	F.I.	Endomysium Tunica muscularis mucosae	Glattmuskel	Autoantikörper	Anmerkungen
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							

6. INHALT DER KITS

		OBJEKTTRÄGER				KONJUGAT			POSITIVKONTROLLE		
Kit-Ref.	**Beschreibung des Kits**	**Ref.**	**Kavitäten**	**Beschichtet mit**	**Menge**	**Ref.**	**Beschreibung**	**Menge**	**Ref.**	**Beschreibung**	**Menge**
512.050	**EMA IgA (5 Kavitäten)**	**S512.050**	5	Affen-Ösophagus	10 x	**C512.050**	**IgA** Blauer Verschluss: leicht blau gefärbte Lösung. Inhalt: BSA, Fluoreszein (FITC)-markierter Anti-Human-Antikörper	1 x 3,5 ml	**PC512.050**	EMA-Positivkontrolle IgA. Roter Verschluss: Farblose Lösung. Inhalt: Humanserum (verdünnt), Natriumazid < 0,1 % (Konservierungsstoff)	1 x 0,5 ml
512.100	**EMA IgA (10 Kavitäten)**	**S512.100**	10		10 x			2 x 3,5 ml			
512.060	**EMA IgG (5 Kavitäten)**	**S512.050**	5		10 x	**C512.060**	**IgG** Blauer Verschluss: leicht blau gefärbte Lösung. Inhalt: BSA, Fluoreszein (FITC)-markierter Anti-Human-Antikörper	1 x 3,5 ml	**PC512.060**	EMA-Positivkontrolle IgG. Roter Verschluss: Farblose Lösung. Inhalt: Humanserum (verdünnt), Natriumazid < 0,1 % (Konservierungsstoff)	1 x 0,5 ml
512.101	**EMA IgG (10 Kavitäten)**	**S512.100**	10		10 x			2 x 3,5 ml			

HINWEIS: Der Inhalt der übrigen Kit-Bestandteile, d. h. der Standardreagenzien (Negativkontrolle, Mounting-Medium etc.), ist nachstehend im Abschnitt 7 INHALT DER STANDARDREAGENZIEN beschrieben.

7. INHALT DER STANDARDREAGENZIEN

c. Standardreagenzien

Ref.	Reagenz	Menge / Volumen		Beschreibung	Gebrauchs-fertig
NCIFA	Negativkontrolle	1 x	0,5 ml	Grüner Verschluss: Farblose Lösung. Inhalt: Humanserum (verdünnt), Natriumazid < 0,1 % (Konservierungsstoff)	JA
*** EBIFA**	Evans-Blau 0,2 %	1 x	1,5 ml	Weißer Verschluss: Blaue Lösung. Inhalt: PBS, Evans-Blau. Das 0,2 %ige Evans-Blau 1:3000 in 1 x WBIFA verdünnen	NEIN
**** MMIFA**	Mounting-Medium	1 x	8 ml	Für die Anwendung mit dem HELMED® validiert Weißer Verschluss: Farblose Lösung. Inhalt: PBS, Glycerin.	JA
*****MMIFA. Bulk**		1 x	12 ml		
WBIFA	Waschpuffer (10 x)	1 x	100 ml	Weißer Verschluss: Farblose Lösung. Den konzentrierten Puffer 1:10 in destilliertem Wasser (z. B. 100 ml + 900 ml) verdünnen. Inhalt: PBS, Natriumazid (Konservierungsstoff).	NEIN
SBIFA	Probenpuffer	1 x	70 ml	Weißer Verschluss: Farblose Lösung. zur Verdünnung der Patientenseren Inhalt: BSA, PBS, Natriumazid (Konservierungsstoff).	JA

Mengenangabe je Kit. (*)müssen separat geordert werden
(**) für 512.050 und 512.060; (***) für 512.100 und 512.101

d. Zusätzlich erforderliches Material

1. Destilliertes Wasser
2. Teströhrchen zur Probenverdünnung
3. Messkolben
4. Volumetrische Pipette
5. Timer
6. Fluoreszenzmikroskop mit FITC-System (Anregungsfilter: 490 nm, Barrierefilter: 510 nm)
7. Inkubationswanne
8. Färbewanne
9. Pipettenspitzen
10. Deckgläser (24 x 60 mm)
11. Spritzflasche

Sollten die Produktinformationen, einschließlich der Produktkennzeichnung, beschädigt oder falsch sein, so wenden Sie sich bitte an den Hersteller bzw. Lieferant des Testkits.

8. LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Lagern Sie alle Reagenzien bei 2-8 °C / 35,6-46,4 °F. Starke Lichteinwirkung ist zu vermeiden. Das Verfallsdatum der einzelnen Komponenten ist auf den jeweiligen Etiketten angegeben. Verwenden Sie die Reagenzien nicht nach dem Verfallsdatum.

Lagern Sie alle Reagenzien und die Objektträger bei 2-8 °C / 35,6-46,4 °F in ihren Originalbehältnissen. Rekonstituierte Lösungen sind nach der Zubereitung mindestens 1 Woche bei 2-8 °C / 35,6-46,4 °F haltbar. **Die Reagenzien und Objektträger dürfen nur bis zu dem auf den einzelnen Komponenten angegebenen Verfallsdatum verwendet werden**.

9. HINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

e. Gesundheitsrisiko

DIESES PRODUKT DARF AUSSCHLIESSLICH ZUR IN VITRO DIAGNOSTIK VERWENDET WERDEN. Die Anwendung muss durch Personal erfolgen, das speziell in der Verwendung von in vitro-Diagnostika unterrichtet und ausgebildet wurde. Die in diesem Produkt enthaltenen Reagenzien sind bei vorschriftmäßigem Gebrauch weder als toxisch noch als gesundheitsgefährlich einzustufen, dennoch sollte zur Gewährleistung der maximalen Sicherheit des Anwenders folgendes eingehalten werden:

Empfehlungen und Vorsichtsmaßnahmen

Dieses Kit enthält potenziell gefährliche Komponenten. Auch wenn die Kitreagenzien nicht als reizend für Augen und Haut eingestuft sind, empfiehlt es sich, den Kontakt mit den Augen und der Haut zu vermeiden und Einweghandschuhe zu tragen.

Die in diesem Produkt enthaltenen Reagenzien humanen Ursprungs (Kontrollen usw.) erwiesen sich bei der Prüfung auf Hepatitis B Oberflächen-Antigen (HbsAg), Hepatitis C und HIV als negativ. Kein Test kann jedoch Viren in derartigem Material mit Sicherheit ausschließen. Daher sind die Kontrollen des Kits sowie Patientenproben als potenziell infektiös einzustufen und gemäß nationalen Vorschriften zu handhaben.

Der Testkit enthält Material tierischen Ursprungs (BSA, Immunglobuline) wie in Kap. „Kitbestandteile“ aufgeführt, befolgen Sie bei Verwendung die nationale Rechtslage.

f. Allgemeine Hinweise

1. Nicht mit dem Mund pipettieren. Während des Arbeitens mit dem Kit nicht essen, trinken oder rauchen
2. Einzelne Komponenten verschiedener Chargen und Testkits sollten nicht ausgetauscht werden, da dies zu Verfälschungen der Messergebnisse führen kann.
3. Nach dem Gebrauch alle Flaschen wieder fest verschließen, um bakterielle Kontaminationen zu vermeiden.
4. Pipettieren Sie immer alle Komponenten mit frischen sterilen Spitzen.
5. Setzen Sie die einzelnen Kit-Komponenten niemals höheren Temperaturen als 37 °C / 98,6 °F aus (außer MMIFA).
6. Lassen Sie die Objektträger während der gesamten Abarbeitung des Testes niemals austrocknen.
7. Die Objektträger niemals einfrieren!

Es wird empfohlen, dass sich jedes Labor seine eigenen Normalwerte, basierend auf eigener Technik, Kontrollen, Ausrüstung und Patientenpopulation erarbeitet.

Eine endgültige klinische Diagnose sollte nicht alleine auf den Ergebnissen des durchgeführten Tests erfolgen, sondern vom Arzt unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde und Laborbefunde erstellt werden.

Wenn die Ergebnisse des Assays nicht mit den angegebenen Akzeptanzbereichen des Kontrollmaterials übereinstimmen ist der Test ungültig und zu wiederholen. Überprüfen Sie bitte die folgenden Bereiche: Verfallsdatum der (angesetzten) Reagenzien, Lagerungsbedingungen, Pipetten und anderes Material zur Abarbeitung, Photometer, Inkubationszeiten und Waschmethode.

Sollten Sie nach Überprüfung der vorgenannten Bereiche Fehler und Abweichungen erkannt haben oder dass die Validationskriterien ohne erkennbaren Grund nicht erreicht werden, setzen Sie sich bitte mit dem Hersteller oder Ihrem Lieferanten in Verbindung.

10. PROBENENTNAHME, VORBEREITUNG UND LAGERUNG

Die Verwendung frischer Serumproben wird empfohlen. Die Blutentnahme hat nach der nationalen Rechtslage zu erfolgen. Blutproben aseptisch entnehmen.

Lipämische, ikterische, hämolytische oder bakteriell kontaminierte Serumproben nicht verwenden.

Bei trüben Proben die Partikel niedrig abzentrifugieren (<1000 x g). Blutproben in saubere, trockene und leere Röhrchen aufnehmen. Nach der Trennung sollten die Serumproben innerhalb von 8 Stunden verwendet werden bzw. bei 2-8 °C / 35,6-46,4 °F für bis zu 2 Wochen gelagert werden. Ist eine längere Lagerung beabsichtigt, sollten die Proben bei -20 °C / -4 °F tiefgefroren werden. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren vermeiden.

11. TESTDURCHFÜHRUNG

g. Vorbereitung

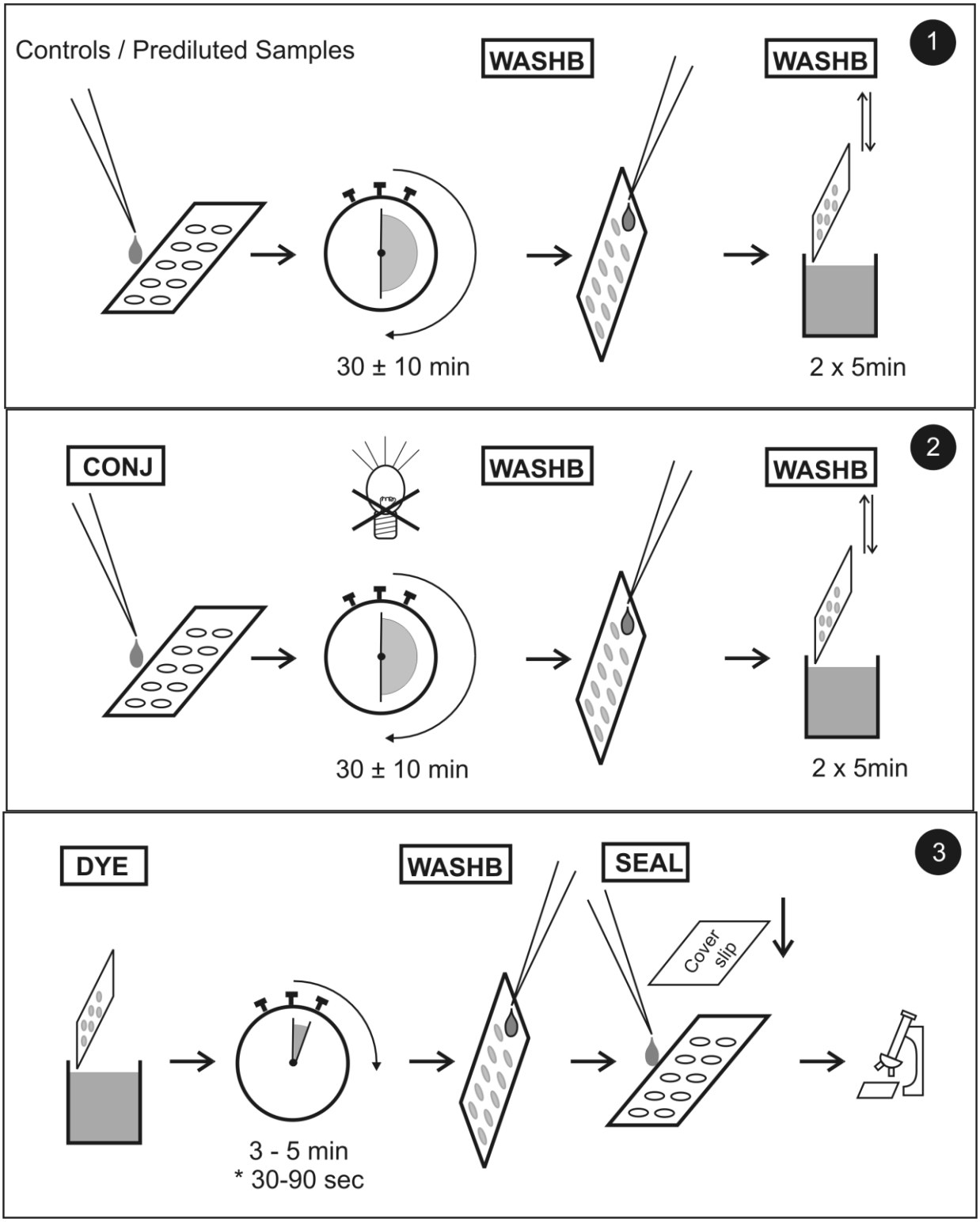
Bringen Sie alle Komponenten vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20-26 °C / 68-78,8 °F) und mischen Sie diese gut. Halten Sie die empfohlenen Inkubationszeiten ein, um ein optimales Testergebnis zu erzielen.

1. Vorbereitung des Waschpuffers: Den konzentrierten Puffer 1:10 in destilliertem Wasser verdünnen.
2. Probenverdünnung: Die Patientenseren mit 1-fach konzentriertem (1x) Probenpuffer verdünnen (für Screening-Titer siehe o.g. Abschnitt ***Anwendung des Kits*** unter Bezugnahme auf die verwendete Produktreferenz). Die Verdünnungen sind je nach Kit zum Nachweis von HEp-2, nDNA, rLKS, EMA, ANCA etc. unterschiedlich.
3. Die Kontrollen sind gebrauchsfertig.
4. Protokollerstellung: Datenauswertungsbögen befinden sich im Abschnitt ***Anwendung des Kits*** unter Bezugnahme auf die verwendete Produktreferenz.
5. Bei erhöhter Viskosität und/oder Trübung sollte das Mounting Medium (MMIFA) vor der Verwendung 15 Minuten lang in einem Wasserbad auf 56 °C / 132,8 °F erwärmt und dann auf Raumtemperatur (20-26 °C / 68-78,8 °F) gebracht werden. Nach dieser Prozedur kann das erwärmte Reagenz bis zu 21 Tage in Folge verwendet werden, vorausgesetzt, es wird bei 2-8 °C / 35,6-46,4 °F gelagert, wie auf dem Reagenzetikett und in der Gebrauchsanweisung angegeben.

h. Testdurchführung

Nr.	Beschreibung der Schritte
1.	Entfernen Sie die für Ihren Test erforderlichen Objektträger aus der Schutzverpackung und beschriften Sie diese. Vermeiden Sie ein Berühren der beschichteten Gewebe oder Zellen. Den Objektträger niemals austrocknen lassen.
2.	**Vorbereitung der Inkubationsschale:** Platzieren Sie eine kleine Menge deionisiertes oder destilliertes Wasser in der Inkubationswanne und setzen Sie die Objektträger ein. Inkubieren Sie die Objektträger 30 Minuten ± 10 Minuten bei Raumtemperatur in der feuchten Inkubationswanne. Benutzen Sie dieselbe Inkubationszeit für das Konjugat **Erste Inkubation:** Pipettieren Sie von jedem zu testendem Patientenserum und den Kontrollen (gebrauchsfertig) eine ausreichende Menge in die entsprechenden Kavitäten. Vermeiden Sie einen direkten Kontakt der Pipettenspitze mit der Objektträgeroberfläche. Stellen Sie sicher, dass jedes Testfeld vollständig mit dem entsprechenden Serum bzw. der Kontrolle benetzt ist. Hierfür ist es wichtig, so viel Testmaterial wie notwendig zu verwenden, ein Ineinanderlaufen der verschiedenen Serumproben ist jedoch zu vermeiden, da dies zu falschen Resultaten führen kann.
3.	**Waschen:** Nach der Inkubation entnehmen Sie die Objektträger aus der Inkubationswanne und spülen diese kurz unter Verwendung einer Spritzflasche mit Waschpuffer ab. Richten Sie den Waschpufferstrom nicht direkt auf die Kavitäten. Achtung: Um Kreuzkontaminationen auf dem Objektträger zu vermeiden, richten Sie bitte den Waschpufferstrom entlang der Mittellinie des Objektträgers und lassen ihn vorsichtig an der unteren Kante ablaufen. Dann kippen Sie den Objektträger und wiederholen den Vorgang für die andere Reihe, auch hier den Washpufferstrom an der nun unteren Kante ablaufen lassen. Waschen Sie anschließend die Objektträger 10 Minuten mit Waschpuffer in einer Färbeküvette. Vermeiden Sie jegliche Berührung des Substrats mit anderen Objekten. Um optimale Resultate zu erzielen ist es erforderlich, den Waschpuffer einmal nach 5 Minuten zu wechseln. Entnehmen Sie die Objektträger aus der Färbeküvette und entfernen Sie vorsichtig einen verbliebenen Überschuss an Waschpuffer. HINWEIS: Achten Sie darauf, dass die Kavitäten während des Verfahrens nicht austrocknen und das Substrat nicht beschädigt wird. Bitte blotten bzw. trocknen Sie den Objektträger keinesfalls. Lassen Sie den Objektträger nicht länger als einige Sekunden ohne Fluoreszenz-Antikörperreagens stehen.
4.	**Zweite Inkubation**: Nach dem Waschen bringen Sie den Objektträger unverzüglich in die feuchte Kammer und bedecken Sie jedes Testfeld mit einer ausreichenden Menge des gebrauchsfertigen FITC markierten Konjugates, so dass das Testfeld vollständig bedeckt ist. Inkubieren Sie die Objektträger 30 Minuten ± 10 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln.
5.	**Waschen:** Nach der Inkubation entnehmen Sie den Objektträger aus der Inkubationsschale und spülen Sie ihn kurz mit Waschpuffer ab. Verwenden Sie hierzu eine Spritzflasche. Richten Sie den Waschpufferstrom nicht direkt auf die Gewebeschnitte oder Zellen. Waschen Sie anschließend die Objektträger 10 min mit Waschpuffer in einer Küvette. Um optimale Resultate zu erzielen ist es erforderlich, den Waschpuffer einmal nach 5 Minuten zu wechseln.
6.	***Optionale Gegenfärbung:** Verdünnen Sie das Gegenfärbe-Reagens (Evans Blue) 1:3000 in Waschpuffer und mischen Sie es gut. Füllen Sie das Evans Blue in eine Färbeküvette und inkubieren Sie die Objektträger darin. Siehe o.g. Abschnitt ***Anwendung des Kits*** für die jeweiligen Inkubationszeiten der einzelnen Produktreferenzen. Evans Blue unterdrückt eine unspezifische Hintergrund-Fluoreszenz. Entnehmen Sie den Objektträger nach der Inkubationszeit und spülen Sie diesen kurz mit Waschpuffer. Entfernen Sie vorsichtig einen verbliebenen Überschuss an Waschpuffer. Bitte blotten Sie die Objektträger nicht auf saugfähiges Papier, ebenso dürfen diese niemals jeglicher Trocknung unterzogen werden.
7.	**Eindecken**: Geben Sie eine ausreichende Menge an Eindeckmedium (Mounting Medium) entlang der Mittellinie auf den Objektträger. Lassen Sie vorsichtig das Deckglas auf das Eindeckmedium gleiten, vermeiden Sie dabei die Bildung von Luftblasen.
8.	**Mikroskopieren**: Mikroskopieren Sie die Objektträger unverzüglich bei 400 bis 800-facher Vergrößerung mit einem Fluoreszenz-Mikroskop (490 nm Anregungsfilter, 510 nm Grenzfilter).

i. Arbeitsablauf



12. FEHLERBEHEBUNG

FEHLER	MÖGLICHE URSACHEN	LÖSUNG
Geringe Zelldichte	• Zelllyse durch Kontakt mit deionisierten Wasser • Puffer direkt auf die Zellen gespritzt	Halten Sie die angegebenen Waschbedingungen ein
	Proteolytische Enzyme haben die Zellen angegriffen	Inaktivieren Sie das Serum
Ungleichmäßige Fluoreszenz	Serum ist auf den Testfeldern eingetrocknet, Fluoreszenz ist an den Rändern stärker	stets in feuchter Umgebung inkubieren
	Serum bedeckt nicht das Testfeld	Verwenden Sie ein ausreichendes Volumen an Testmaterial
	Kreuzreaktionen zwischen Testfeldern	ein Überlaufen der Proben zwischen den Testfeldern bei der ersten Inkubation vermeiden
	Beschriftung des Objektträgers mit einem Wachsstift erzeugt einen Film	Verwenden Sie einen Bleistift
	Mikroskop falsch justiert	Überprüfen Sie die Justierung
Bild diffus	Objektträger im Kühlschrank ohne Bedeckung gelagert	Versiegeln Sie das Deckglas mit Nagellack oder Paraffinwachs
	I.F. Mikroskop verschmutzt. Mögliche Kratzer auf der Linse	Säubern Sie das Mikroskop entsprechend der Bedienungsanleitung
Geringe oder keine Fluoreszenz	Konjugat und Objektträger eingefroren und wieder aufgetaut	Konjugate und Objektträger bei 2-8 °C / 35,6-46,4 °F lagern.
	Kontrollen wurden verdünnt	Überprüfen Sie die Anleitung, verwenden Sie die gebrauchsfertigen Kontrollen des Kits
	• Bakterielle Kontamination der Seren oder Konjugate • Mikroskop nicht justiert • pH-Wert des Waschpuffers zu niedrig (pH Wert 7,4 ± 0,2)	Bedingungen überprüfen
	FITC Konjugat Licht ausgesetzt	Konjugat unter Vermeidung von Lichteinfall lagern
Background Fluoreszenz	• Falsch gewaschen • Objektträger ist ausgetrocknet • Lipämische, hämolytische Seren • Mikroskop Fehler	• Waschvorgaben überprüfen • Objektträger niemals austrocknen lassen • frische Seren verwenden • Überprüfen Sie die Filter / das Objektiv

13. REGULATORISCHE SYMBOLE

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	
CE	- Conformità europea	- EC Declaration of Conformity
	- Déclaration CE de Conformité	- Declaración CE de Conformidad
	- Europäische Konformität	- Ευρωπαϊκή συμφωνία
	- Declaração CE de conformidade	
	¨ Rispettare le istruzioni per l'uso	¨ See instructions for use
	¨ Voir les instructions d'utilisation	¨ Ver las instrucciones de uso
	¨ Gebrauchsanweisung beachten	¨ Λάβετε υπόψη τις οδηγίες χρήσης
	¨ Ver as instrucões de uso	
	- 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	
Σ	- Numero di determinazioni	- Number of determnations
	- Nombre de déterminations	- Número de determinaciones
	- Anzahl der Prüfungen	- Αριθμός προσδιορισμών
	- Número de determinações	