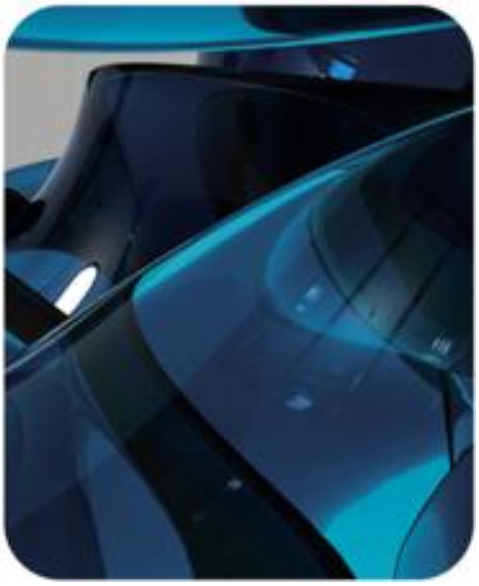
AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS





AESKUSLIDES®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

Οδηγίες χρήσης

AESKUSLIDES® EMA

Ref 512.xxx

CE

AESKUSLIDES®
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

EMA (Endomysium)

Αναφ. προτύπου	Περιγραφή	Δοκιμές
512.050	**EMA IgA** (5 βοθρία)	50
512.100	**EMA IgA** (10 βοθρία)	100
512.060	**EMA IgG** (5 βοθρία)	50
512.101	**EMA IgG** (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. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ 1
2. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΚΑΙ ΑΡΧΕΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ 1
3. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΟΥ ΚΙΤ 2
4. ΕΡΜΗΝΕΙΑ 2
   a. Ερμηνεία EMA IgA 2
   b. Ερμηνεία EMA IgG 2
5. ΦΥΛΛΟ ΕΡΜΗΝΕΙΑΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ 3
6. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΤΥΠΙΚΟΥ ΚΙΤ 4
7. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΚΟΙΝΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ 5
   c. Κοινά αντιδραστήρια 5
   d. Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται 5
8. ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ 6
9. ΥΠΟΔΕΙΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΧΡΗΣΗΣ 6
   e. Δεδομένα κινδύνου για την υγεία 6
   f. Γενικές οδηγίες χρήσης 7
10. ΣΥΛΛΟΓΗ, ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΦΥΛΑΞΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ 7
11. ΔΙΕΞΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ 8
   g. Προετοιμασία 8
   h. Διεξαγωγή δοκιμασίας 9
   i. Ροή εργασιών 10
12. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ 11
13. ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΆ ΣΎΜΒΟΛΑ 12

EMA (Endomysium)

1. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

***AESKUSLIDES*® EMA IgA και IgG** είναι μία δοκιμασία έμμεσου ανοσοφθορισμού για τον προσδιορισμό αυτοαντισωμάτων έναντι της ιστικής τρανσγλουταμινάσης (tTG) στον ανθρώπινο ορό.
Το κιτ δοκιμής προορίζεται μόνο για επαγγελματική χρήση σε εργαστήρια

2. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΚΑΙ ΑΡΧΕΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

Η εντεροπάθεια από γλουτένη ή κοιλιοκάκη χαρακτηρίζεται από ατροφία των λαχνών του λεπτού εντέρου, η οποία καταλήγει στη λεγόμενη ατροφία των λάχνων. Προκαλείται από παθολογική υπερευαισθησία ενάντια στη γλιαδίνη, το διαλυτό σε αλκοόλη τμήμα της γλουτένης, στο σιτάρι, τη σίκαλη και το κριθάρι. Εφόσον η κοιλιοκάκη προκαλείται από την πέψη γλουτένης, προκύπτει το γεγονός ότι μία διατροφή ελεύθερη γλουτένης θεραπεύει πλήρως τη νόσο και πρέπει έτσι να διατηρείται εφ' όρου ζωής. Εκ νέου λήψη γλιαδίνης έχει ως αποτέλεσμα την επιστροφή των συμπτωμάτων. Η ασθένεια σχετίζεται με το HLA (>95 % των ασθενών έχουν DQ2 enREFd μέσω DQA1*0501 και DQB1*0201) και εκδηλώνεται σε κάθε ηλικία με μεγαλύτερη συχνότητα στην πρώιμη παιδική ηλικία, ακόμη και σε νεογνά. Τα ποσοστά συχνότητάς της ανέρχονται στα Ευρωπαϊκά κράτη μεταξύ 1 σε 4000 και 1 σε 300.

Η διάγνωση της κοιλιοκάκης τίθεται μέσω μίας βιοψίας λεπτού εντέρου (η οποία δείχνει ατροφία των λάχνων), υποστηριζόμενη από δείκτες ορού. Τα αντισώματα έναντι της γλιαδίνης και αντισώματα ενδομυσίου (EMA) έχουν εδώ ιδιαίτερη σημασία. Μέχρι τώρα ανιχνεύονταν μέσω έμμεσου ανοσοφθορισμού, ο οποίος περιορίζεται μόνο στην υποομάδα IgA. Η διαπίστωση ιστικής τρανσγλουταμινάσης (tTG) ως κύριο αντιγόνο – στόχος των EMA προσέφερε μία πιο απλή και πιο αξιόπιστη διάγνωση της κοιλιοκάκης. Η tTG είναι ένα ένζυμο, το οποίο απελευθερώνεται κατά τον τραυματισμό κυττάρων και για το οποίο εικάζεται ότι συμμετέχει στην επιδιόρθωση του ιστού.

Τα αντί- tTG αντισώματα εμφανίζουν μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα απ' ότι τα αντι-γλιαδινικά αντισώματα. Ακόμη, σχετίζονται στενά με την ενεργότητα της νόσου και έτσι είναι ιδιαίτερα χρήσιμα στον έλεγχο της διατροφής. Η διαπίστωση αντισωμάτων IgG ενάντια στην tTG είναι η μόνη διατιθέμενη ειδική ορολογία για το 2 % έως 5 % των ασθενών με έλλειψη IgA. Ένας μεγάλος αριθμός υποκλινικών περιπτώσεων διαπιστώθηκε με έλεγχο αντι- tTG, πράγμα το οποίο υποστηρίζει τη θεωρία ότι η πλειοψηφία των περιπτώσεων κοιλιοκάκης παραμένει αδιάγνωστη και χωρίς θεραπεία (φαινόμενο του παγόβουνου).[1]

Αναφέρεται πως ασθενείς με πεμφιγώδη νόσο εμφανίζουν ένα συγκεκριμένο μοτίβο σε οισοφάγο πιθήκου IIF[2]. Αντι-δερματικά αντισώματα κατευθύνονται στην ενδοκυττάρια περιοχή και είναι χαρακτηριστικά για κοινή πέμφιγγα, φυλλώδη πέμφιγγα και παρανεοπλασματική πέμφιγγα, ενώ δεν είναι δυνατή η διάκριση μεταξύ των διαφόρων τύπων πεμφιγγας με IIF.

[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

Χαρακτηρισμός αντιγόνου Υπόστρωμα αντιγόνου: οισοφάγος πιθήκου

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. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΟΥ ΚΙΤ

Ανατρέξτε στη Διεξαγωγή δοκιμασίας στην Ενότητα 11, του Κοινού εγχειριδίου, για λεπτομερείς οδηγίες. Τα παρακάτω στοιχεία θα χρησιμοποιηθούν για τα κιτ EMA:

- Χρόνος αντίχρωσης: 3 έως 5 λεπτά
- Συνιστώμενος τίτλος ελέγχου:
  - 1:5

4. ΕΡΜΗΝΕΙΑ

a. Ερμηνεία EMA IgA

Το ενδομύϊο είναι το υποστηρικτικό δομικό συστατικό που περιβάλλει το συνδυασμό λείων και των ραβδωτών μυϊκών ινών που βρίσκονται στο μεσαίο τρίτο του οισοφάγου. Περιέχει κολλαγόνο και ρετικουλίνη μαζί με το αντιγόνο-στόχο ενδομυΐου που δεν έχει χαρακτηριστεί ακόμα.

Η γλιαδίνη είναι το διαλυτό σε αλκοόλη τμήμα της γλουτένης που είναι το φλεγμονώδες αντιγόνο στην κοιλιοκάκη. Τα αντισώματα σχετίζονται με την κοιλιοκάκη και την ερπητοειδή δερματίτιδα.

b. Ερμηνεία EMA IgG

Ο προσδιορισμός αντισωμάτων IgG έναντι της tTG είναι η μόνη διαθέσιμη ειδική ορολογία για το 2 % έως 5 % των ασθενών με ανεπάρκεια IgA.

Παραδείγματα για αραίωση:

1:5	50 µL ορού	+	200 µL ρυθμιστικού διαλύματος δείγματος
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

5. ΦΥΛΛΟ ΕΡΜΗΝΕΙΑΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

EMA

Ημερομηνία:	Παρτίδα:
Αρ. αντικειμενοφόρου:	Χειριστής:

Αρ. βοθρίου	Αναγνωριστικό	Παράγοντας αραίωσης	F.I.	Ενδομύϊο Βλεννογόνος μυϊκός χιτώνας	Λείος μυς	Αυτοαντισώματα	Παρατηρήσεις
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							

6. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΤΥΠΙΚΟΥ ΚΙΤ

		ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟΦΟΡΟΙ				ΣΥΖΕΥΓΜΑ			ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ		
Αναφ. κιτ	**Περιγραφή του κιτ**	**Αναφ.**	**Βοθρία**	**Επικαλυμένα με**	**Ποσότητα**	**Αναφ.**	**Περιγραφή**	**Ποσότητα**	**Αναφ.**	**Περιγραφή**	**Ποσότητα**
512.050	**EMA IgA** (5 βοθρία)	**S512.050**	5	Οισοφάγος πιθήκου	10 x	**C512.050**	**IgA** Μπλε καπάκι: διάλυμα ελαφρώς μπλε χρώματος. Συστατικά στοιχεία: BSA, Φλουορεσκεΐνη (FITC)-επισημασμένο αντι-ανθρώπινο αντίσωμα	1 x 3,5 ml	**PC512.050**	Θετικός μάρτυρας EMA IgA Κόκκινο καπάκι: άχρωμο διάλυμα. Συστατικά στοιχεία: Ανθρώπινος ορός (διαλυμένος), οξείδιο του νατρίου < 0,1 % (συντηρητικό)	1 x 0,5 ml
512.100	**EMA IgA** (10 βοθρία)	**S512.100**	10		10 x			2 x 3,5 ml			
512.060	**EMA IgG** (5 βοθρία)	**S512.050**	5		10 x	**C512.060**	**IgG** Μπλε καπάκι: διάλυμα ελαφρώς μπλε χρώματος. Συστατικά στοιχεία: BSA, Φλουορεσκεΐνη (FITC)-επισημασμένο αντι-ανθρώπινο αντίσωμα	1 x 3,5 ml	**PC512.060**	Θετικός μάρτυρας EMA IgG Κόκκινο καπάκι: άχρωμο διάλυμα. Συστατικά στοιχεία: Ανθρώπινος ορός (διαλυμένος), οξείδιο του νατρίου < 0,1 % (συντηρητικό)	1 x 0,5 ml
512.101	**EMA IgG** (10 βοθρία)	**S512.100**	10		10 x			2 x 3,5 ml			

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Τα περιεχόμενα των υπόλοιπων συστατικών των κιτ, δηλαδή, τα κοινά αντιδραστήρια (αρνητικός ορός ελέγχου, μέσο μονιμοποίησης κλπ.) περιγράφονται παρακάτω στην ενότητα 7 ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΚΟΙΝΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ.

7. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΚΟΙΝΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

c. Κοινά αντιδραστήρια

Αναφ.	αντιδραστήριο	Ποσότητα / Όγκος		Περιγραφή	Έτοιμο προς χρήση
NCIFA	Αρνητικός μάρτυρας	1x	0.5ml	Πράσινο καπάκι: άχρωμο διάλυμα. Συστατικά στοιχεία: Ανθρώπινος ορός (διαλυμένος), οξείδιο του νατρίου < 0,1 % (συντηρητικό)	ΝΑΙ
*** EBIFA**	Evans Blue 0,2 %	1x	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	1x	8 ml	Εγκεκριμένο για χρήση με το HELMED® Λευκό καπάκι: άχρωμο διάλυμα Συστατικά στοιχεία: PBS, Γλυκερίνη.	ΝΑΙ
***** MMIFA. Bulk**		1x	12 ml		
WBIFA	Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (10x)	1x	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	1x	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
(**) για 512.050 και 512.060; (***) για 512.100 και 512.101

d. 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 490 nm, φίλτρο αποκοπής 510 nm)
7. Δίσκος επώασης
8. Τρυβλίο χρώσης
9. Ρύγχη πιπετών
10. Καλυπτρίδες (24 x 60 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.

8. ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ

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.**

9. ΥΠΟΔΕΙΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΧΡΗΣΗΣ

e. 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'.

f. 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.

10. 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.

11. ΔΙΕΞΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ

g. Προετοιμασία

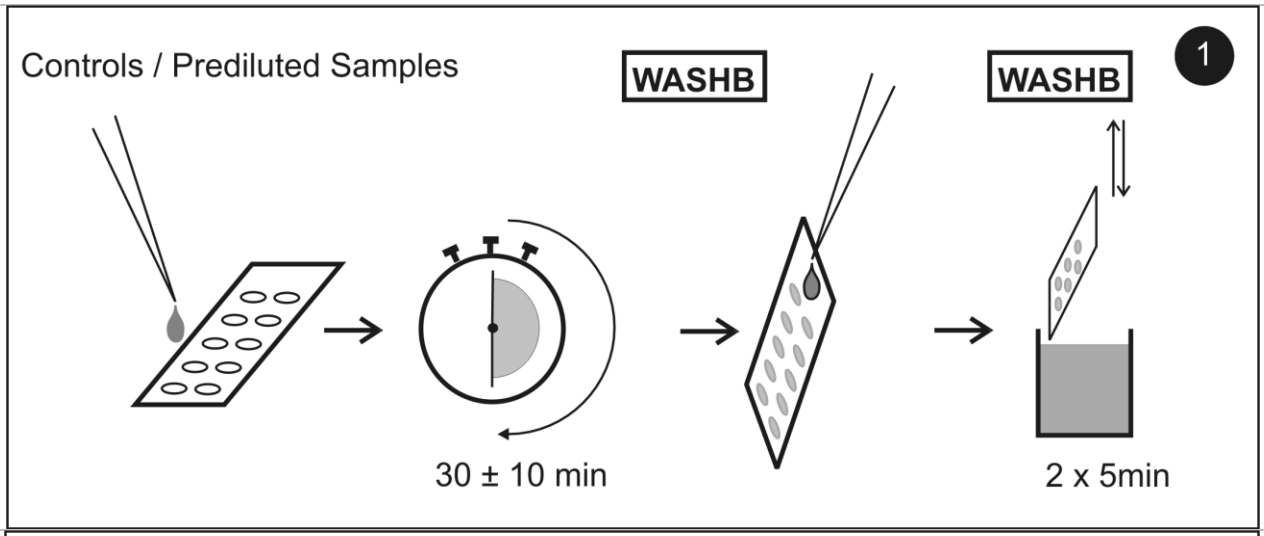
Αφήστε όλα τα συστατικά να έλθουν σε θερμοκρασία δωματίου (20-26 °C / 68-78,8 °F) πριν τη χρήση, αναμείξτε καλά και ακολουθήστε το συνιστώμενο σχήμα επώασης για μια βέλτιστη απόδοση της εξέτασης.

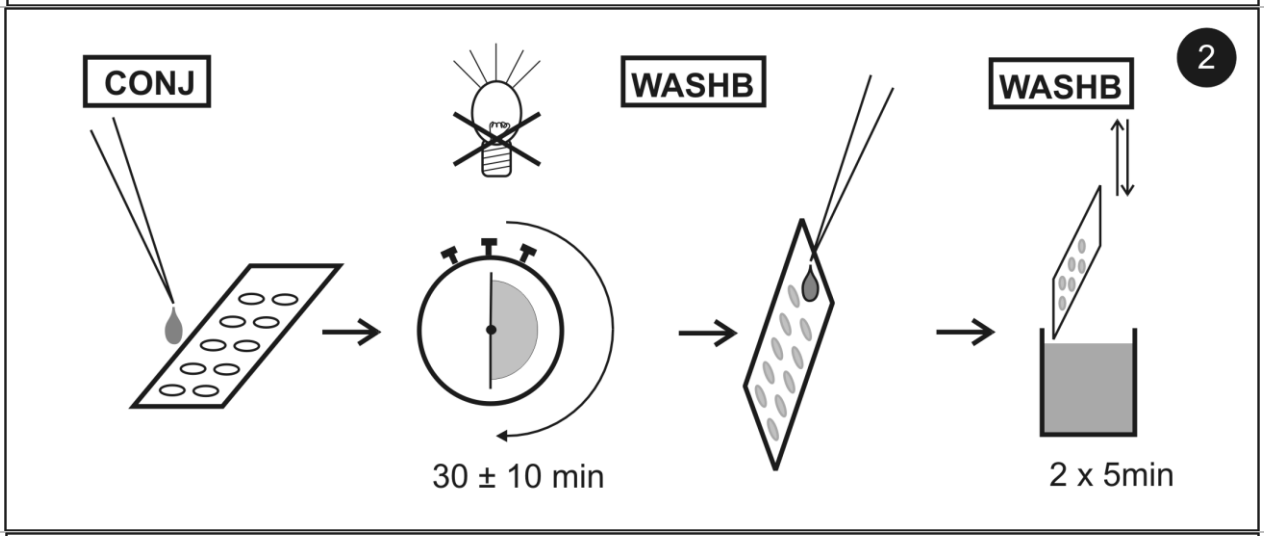
1. Προετοιμασία του Ρυθμιστικού ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης: Αραιώστε το συμπυκνωμένο ρυθμιστικό διάλυμα κατά 1:10 σε αποσταγμένο νερό.
2. Αραίωση δειγμάτων: Αραιώστε ορό ασθενούς (για τον τίτλο ελέγχου ανατρέξτε στην ενότητα ***Διαδικασία κιτ*** παραπάνω σύμφωνα με την αναφορά προϊόντος που χρησιμοποιείτε) 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.

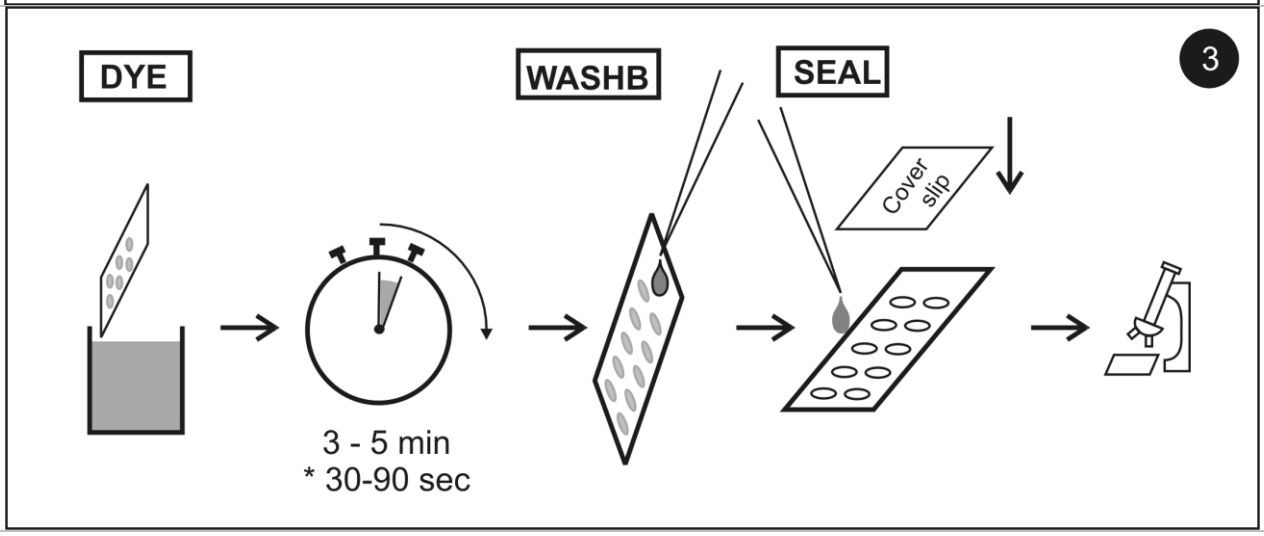
h. Διεξαγωγή δοκιμασίας

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).

i. Ροή εργασιών



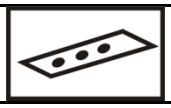




12. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ

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 Αραιωμένοι μάρτυρες	Συζυγές και αντικειμενοφόροι αποθηκευμένοι σε 2-8 °C / 35,6-46,4 °F.
	Βακτηριακή μόλυνση των ορών ή του συζυγούς	Ελέγξτε τις οδηγίες, χρησιμοποιήστε έτοιμους για χρήση μάρτυρες κιτ.
	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 οροί • Σφάλμα μικροσκοπίου	• Ελέγξτε τις οδηγίες πλύσης • Μην αφήνετε τις αντικειμενοφόρους να στεγνώσουν. • Χρησιμοποιείτε μόνο πρόσφατα συλλεγμένους ορούς. • Ελέγξτε την ορθότητα του φίλτρου / αντικειμένου.

13. ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΆ Σ΄ΥΜΒΟΛΑ

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
	¨ Gebrauchsanwesisung 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	
	- 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	