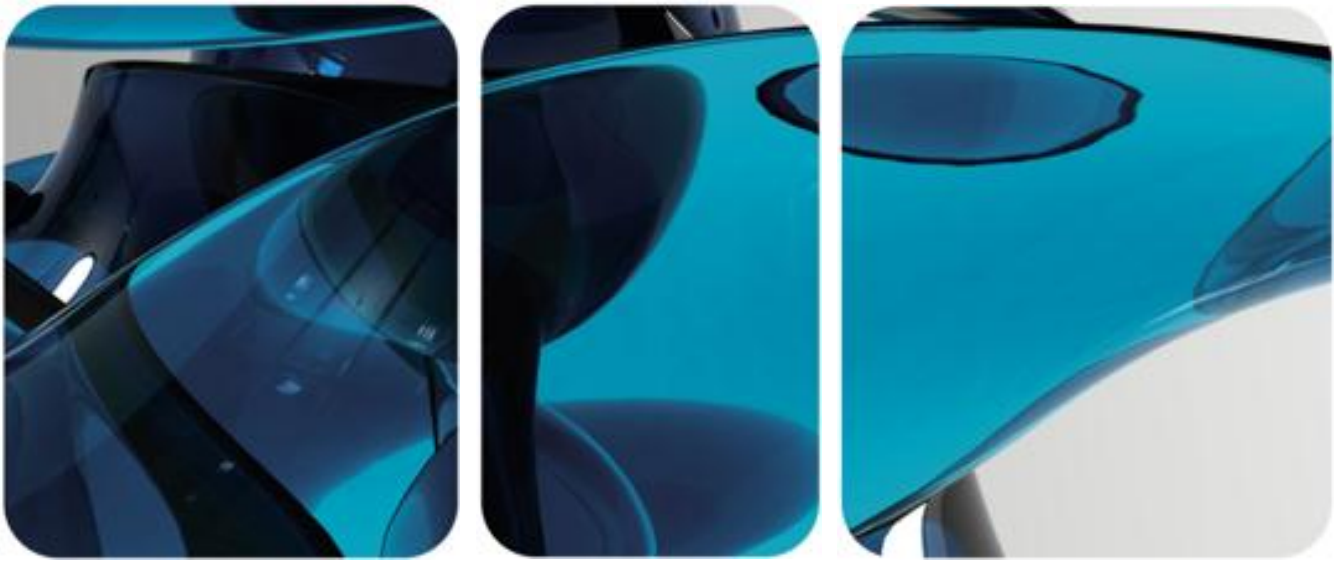
AESKU.DIAGNOSTICS

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKUSLIDES®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

MANUEL D'INSTRUCTIONS

AESKUSLIDES® Rodent Tissues

Ref 517.xxx & 518.xxx

CE

AESKUSLIDES®
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



MANUEL D'INSTRUCTIONS

Rodent Tissues (LKS rat/souris)

Réf. standard	Description	Tests
517.050	**rLKS** - rat, conditionnés (5 puits)	50
517.101	**rLKS** - rat, conditionnés (10 puits)	100
517.051	**rLKS** - rat, séparés (5 puits)	50
517.100	**rLKS** - rat, séparés (10 puits)	100
518.050	**mLKS** - souris, séparés (5 puits)	50
518.100	**mLKS** - souris, séparés (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. FICHE D'INTERPRÉTATION DES DONNÉES 4
6. CONTENU DU KIT STANDARD 5
6.1. Kits Standards 5
7. RÉACTIFS COMMUNS 6
a. Réactifs communs 6
b. Matériel nécessaire mais non fourni 6
8. STOCKAGE ET DURÉE DE CONSERVATION 7
9. PRÉCAUTIONS D'EMPLOI 7
c. Données relatives aux risques pour la santé 7
d. Règles générales pour l'utilisation 7
10. RECUEIL D'ÉCHANTILLONS, MANIPULATION ET STOCKAGE 8
11. PROCÉDURE DU TEST 8
e. Préparation 8
f. Réalisation du test 9
g. Procédure 10
12. DÉPANNAGE 11
13. SYMBOLES RÉGLEMENTAIRES 12

Rodent Tissues (LKS rat/souris)

1. USAGE PRÉVU

Les références ***AESKUSLIDES***® ci-dessus sont des analyses par immunofluorescence indirecte visant à détecter les anticorps dirigés contre les mitochondries (AMA), le muscle lisse (ASMA), les microsomes du rein et du foie (LKM) ou les cellules pariétales (APCA) circulantes, par exemple, dans le sérum humain.

2. APPLICATIONS CLINIQUES ET PRINCIPE DU TEST

Les maladies autoimmunes sont provoquées par des déficiences des réactions immunologiques dans les mécanismes immunité humorale et/ou cellulaire. Ces réactions, qui se déroulent normalement contre des influences extérieures, peuvent se diriger dans certaines circonstances contre le corps lui-même et engendrer ainsi différentes maladies.

ANA: La présence d'anticorps anti-nucléaires (antinuclear antibodies, ANA) peut être constatée sur toutes les coupes de tissus grâce à une fluorescence nucléaire. En outre, il est déconseillé de les utiliser pour dépister des modèles ANA dans la mesure où les cellules HEp-2 sont bien plus sensibles et permettent la détection de plusieurs types de modèles différents.

AMA: Les anticorps anti-mitochondries (anti-mitochondrial antibodies, AMA) réagissent principalement avec la membrane interne mitochondriale riche en phospholipides. Les AMA apparaissent surtout dans les maladies telles que la cirrhose biliaire primitive (CBP, en anglais primary biliary cirrhosis d'où l'abréviation PBC), le syndrome pseudo-lupique érythémateux et différentes formes d'hépatite chronique agressive. Des titres élevés d'AMA s'observent surtout dans les inflammations non purulentes de la vésicule biliaire ou dans la cirrhose biliaire primitive (résultats positifs dans environ 90% des cas).

Ici, les anticorps apparaissent déjà avant la manifestation clinique et même une thérapie s'attaquant au déroulement de la maladie n'a presque pas d'influence sur ces anticorps.

On observe des titres faibles d'anticorps dans la sclérodermie, dans le syndrome de Sjögren, dans l'arthrite rhumatoïde et dans d'autres maladies autoimmunes.

ASMA: Les anticorps anti-muscle lisse (anti-smooth muscle antibodies, ASMA) apparaissent dans de nombreuses maladies du foie, par exemple dans les hépatites chroniques et aiguës, dans la cirrhose biliaire primitive ainsi que dans d'autres formes de cirrhose du foie. Par ailleurs, la détection des ASMA sert au diagnostic du lupus érythémateux systémique (LES), des mononucléoses infectieuses, de carcinomes du sein et des ovaires et des mélanomes malins.

LKM: Anticorps qui se lient au cytochrome p450 et sont fréquemment associés à l'hépatite auto-immune de type 2 se développant principalement dans un sous-groupe de fillettes et de jeunes femmes (prévalence de 80 %). Ils peuvent également être associés à l'hépatite C.

APCA: Les anticorps circulants dirigés contre des structures des cellules pariétales gastriques (posées sur la paroi de l'estomac) sont généralement associés à une anémie pernicieuse. Mais ils peuvent aussi se produire dans d'autres maladies p. ex. de l'estomac (gastrite atrophique chronique, ulcère de l'estomac), de la glande thyroïde (thyroïdite Hashimoto, myxoedème), et plus rarement dans l'anémie ferriprive, dans le diabète mellitus ou encore chez les personnes âgées.

Substrat de caractérisation de l'antigène : foie, rein ou estomac de rat ou de souris/rein ou estomac de rat ou de souris

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 11, pour des instructions détaillées. Les précisions suivantes se rapportent aux kits de tissus de rongeurs:

- Temps de contre-coloration: 3-5 minutes
- Dilution de dépistage recommandée: 1:20

4. INTERPRÉTATION

LKS R ou M/KS R ou M: La coupe de tissus combinés permet de différencier plusieurs anticorps dans une zone de test et peut donc être appliquée en tant que test de diagnostic pour dépister les anticorps auto-immuns suivants (s'il y a plusieurs anticorps, il est recommandé d'approfondir l'identification de diagnostic). Toujours procéder à l'évaluation avec les contrôles positifs et négatifs.

ANA: La présence d'anticorps anti-nucléaires peut être détectée par fluorescence nucléaire positive dans chaque tissu fourni.

AMA: La présence d'anticorps anti-mitochondriaux est mise en évidence par une fluorescence cytoplasmique granulaire fine dans les tubules rénaux. Les tubules distaux sont plus riches en mitochondries et présentent donc une fluorescence plus intense que les tubules proximaux.

ASMA: La présence d'ASMA est indiquée par une fluorescence dans les fibres des muscles lisses des vaisseaux sanguins du rein et de l'estomac, de la muqueuse musculaire, de la tunique musculaire de l'estomac, ainsi que dans les fibrilles contractiles interglandulaires de la muqueuse de l'estomac.

APCA: La présence d'APCA est indiquée par une fluorescence granulaire fine dans les cellules pariétales de la muqueuse gastrique. Étant donné que l'AMA réagit aussi avec les cellules pariétales, il faut exclure les anticorps anti-mitochondries (tubules rénaux) lors de l'examen de l'APCA.

LKM: Une coloration spécifique est observée dans le cytoplasme des tubules rénaux proximaux, mais pas dans les distaux. Le foie affiche une coloration homogène des hépatocytes ; aucune coloration n'est observée dans l'estomac.

AMA:

- 1:20 à 1:80 (par ex., 10 µL de sérum + 790 µL de tampon d'échantillon). On observe une réaction positive dans plusieurs maladies du foie.

- >1:160 (par ex., 10 µL de sérum + 1 590 µL de tampon d'échantillon). Indique une cirrhose biliaire. Les concentrations d'AMA restent stables pendant une période prolongée, malgré l'administration de traitements. La détermination de la concentration n'est donc pas utile pour vérifier l'action du traitement.

ASMA:

- 1:20 à 1:80 (par ex., 10 µL de sérum + 790 µL de tampon d'échantillon). On observe une réaction positive dans plusieurs maladies du foie, l'hépatite virale et la cirrhose biliaire primaire. Dans ce cas, les concentrations peuvent toutefois chuter au-dessous le seuil de détermination. De faibles concentrations peuvent être observées chez les patients atteints d'infections de la vésicule biliaire, de cirrhose alcoolique, de SLE et dans 2 % de la population normale en bonne santé.

- >1:160 (par ex., 10 µL de sérum + 1 590 µL de tampon d'échantillon). Indique une hépatite chronique active. Contrairement à l'hépatite virale, les concentrations ne chutent que très peu et peuvent persister pendant plusieurs années. Les patients atteints de mononucléose infectieuse peuvent aussi afficher des concentrations élevées d'ASMA.

APCA: La concentration d'APCA ne donne aucune information sur l'état pathologique du patient. La détermination des anticorps doit être évaluée conjointement à la mesure du facteur intrinsèque et/ou aux résultats histopathologiques.

La concentration finale adéquate est celle où le sérum du patient affiche une fluorescence positive simple. En cas de faible fluorescence avec des concentrations comprises entre 1:20 et 1:40 ou de manque de précision des résultats cliniques, il convient de procéder à un contrôle de suivi. Dans ce cas, des échantillons doivent être prélevés toutes les 3 semaines environ et testés de la même manière.[1]

[1] Thomas L; Labor und Diagnose; 6th Edition; TH-Books GmbH

5. FICHE D'INTERPRÉTATION DES DONNÉES

LKS

Date:	Lot:
Lame nº:	Opérateur:

N° de puits	ID	Facteur de dilution	Indice de fluorescence	Foie	Rein		Estomac		Noyau	Anticorps	Commentaires
					Tubules	Glomérules	Cellules pariétales	Muscle lisse			
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11											
12											
13											
14											
15											
16											
17											
18											

6. CONTENU DU KIT STANDARD

6.1. Kits Standards

		LAMES				CONJUGUÉ			CONTRÔLE POSITIF		
Réf. du kit	**Description du kit**	**Réf.**	**Puits**	**Revêtement**	**Quantité**	**Réf.**	**Description**	**Quantité**	**Réf.**	**Description**	**Quantité**
517.050	**rLKS** enveloppés. 5 puits	S517.050	5	Tissus de LKS de rat (L/K conditionnés dans l'estomac)	10 x	CDTIFA	**IgG** Capuchon bleu : solution légèrement bleue. Contenu : BSA, anticorps antihumains marqués à la fluorescéine (FITC)	1 x 3,5 ml	PCDTIFA	Contrôle positif d'AMA. Capuchon rouge : solution incolore. Contenu : sérum humain (dilué), azoture de sodium < 0,1 % (conservateur)	1 x 0,5 ml
517.101	**rLKS** enveloppés. 10 puits	S517.101	10	Tissus de LKS de rat (L/K conditionnés dans l'estomac)	10 x			2 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml
517.051	**rLKS** sép. 5 puits	S517.051	5	Tissus de LKS de rat (coupes de LKS séparées)	10 x			1 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml
517.100	**rLKS** sép. 10 puits	S517.100	10	Tissus de LKS de rat (coupes de LKS séparées)	10 x			2 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml
518.050	**mLKS** sép. 5 puits	S518.050	5	Tissus de LKS de souris (coupes de LKS séparées)	10 x			1 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml
518.100	**mLKS** sép. 10 puits	S518.100	10	Tissus de LKS de souris (coupes de LKS séparées)	10 x			2 x 3,5 ml			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 7 RÉACTIFS COMMUNS.

7. RÉACTIFS COMMUNS

a. 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	1,5ml	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
***** MMIFA. Bulk**		1 x	12 ml		
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.
(**) pour 517.050, 517.051 et 518.050 ; (***) pour 517.101, 517.100 et 518.100

b. 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.

8. 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**.

9. PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

c. 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.

d. 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.

10. 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.

11. PROCÉDURE DU TEST

e. Préparation

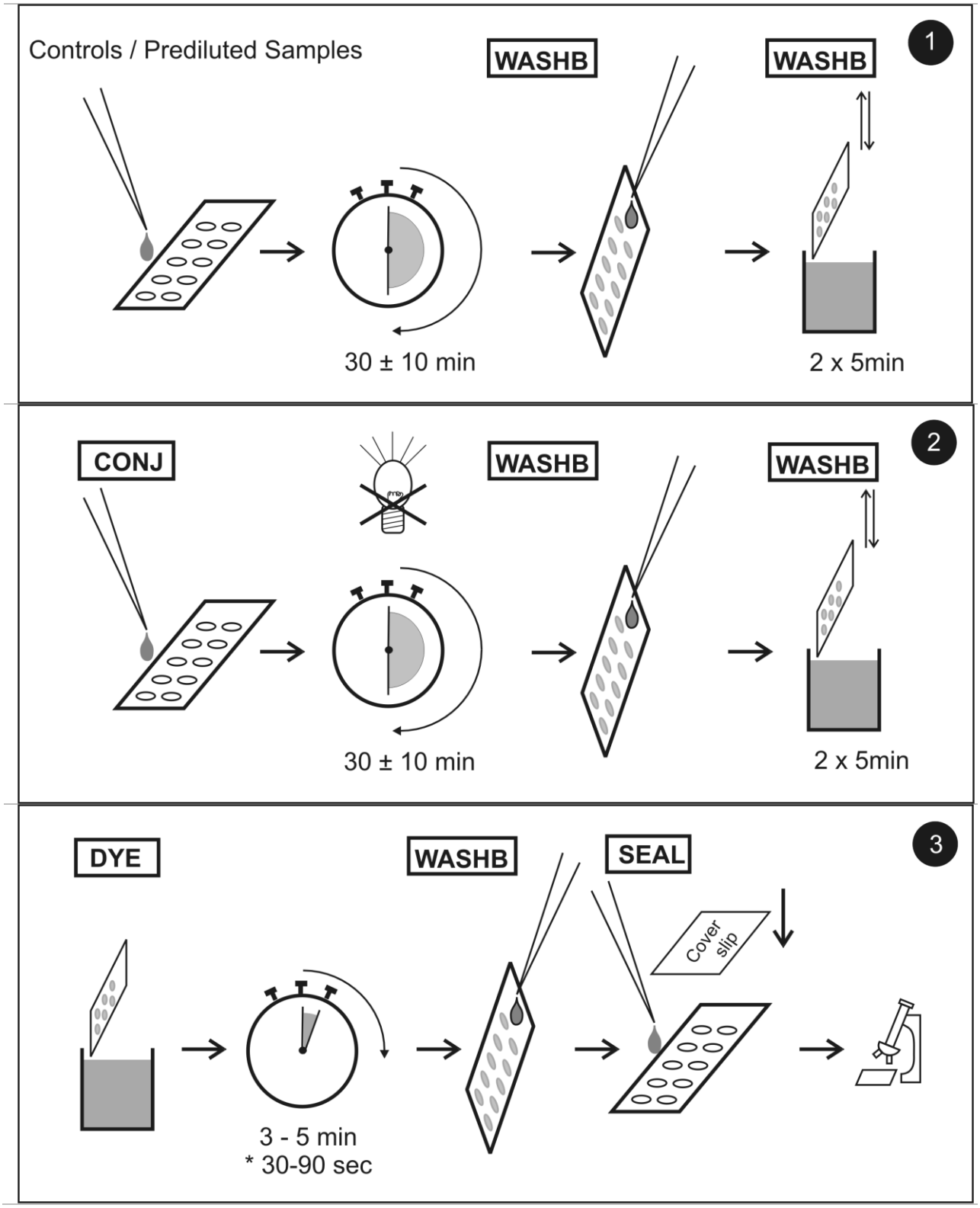
Amener tous les composants à température ambiante (20-26 °C / 68-78,8 °F) avant usage et bien les mélanger. Respecter le temps d'incubation recommandé pour chaque composant afin d'obtenir un résultat optimal.

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.

f. 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).

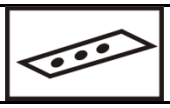
g. Procédure


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

12. 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

13. 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	
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	
	- 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	