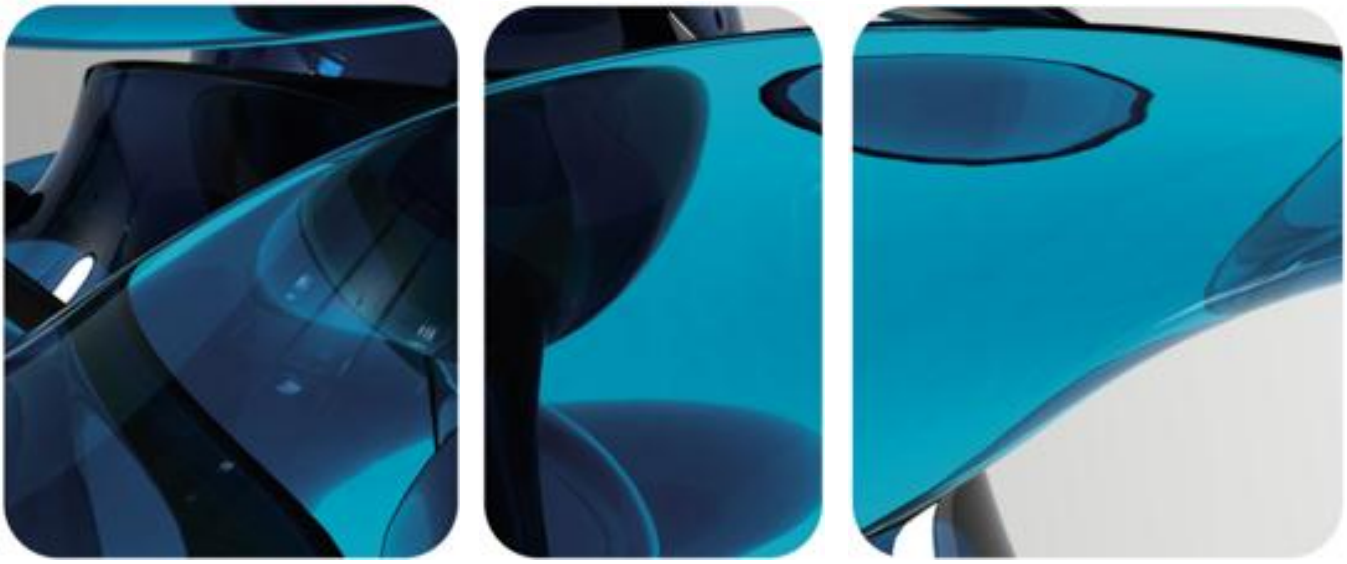
AESKU.DIAGNOSTICS

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKUSLIDES®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

MANUALE DI ISTRUZIONI

AESKUSLIDES® Rodent Tissues

Ref 517.xxx & 518.xxx

CE

AESKUSLIDES®
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



MANUALE DI ISTRUZIONI

Rodent Tissues (ratto/topo LKS)

Rif. standard	Descrizione	Test
517.050	**rLKS** - ratto, avvolti (5 pozzetti)	50
517.101	**rLKS** - ratto, avvolti (10 pozzetti)	100
517.051	**rLKS** - ratto, separati (5 pozzetti)	50
517.100	**rLKS** - ratto, separati (10 pozzetti)	100
518.050	**mLKS** - topo, separati (5 pozzetti)	50
518.100	**mLKS** - topo, separati (10 pozzetti)	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

Indice dei contenuti

1. USO PREVISTO 1
2. IMPIEGO CLINICO E PRINCIPIO DEL TEST 1
3. PRINCIPIO DEL TEST 2
4. INTERPRETAZIONE 2
5. SCHEDA DI INTERPRETAZIONE DEI DATI 4
6. CONTENUTO DEI KIT STANDARD 5
6.1. Kit Standard 5
7. CONTENUTO DEI REAGENTI COMUNI 6
a. Reagenti comuni 6
b. Materiale occorrente, ma non fornito 6
8. CONSERVAZIONE E VALIDITÀ 7
9. PRECAUZIONI D'USO 7
c. Rischi per la salute 7
d. Istruzioni d'uso generali 7
10. RACCOLTA, PREPARAZIONE E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI 8
11. ESECUZIONE DEL TEST 8
e. Preparazione 8
f. Procedura 9
g. Flusso di lavoro 10
12. RISOLUZIONE DEI PROBLEMI 11
13. SIMBOLI NORMATIVI 12

Rodent Tissues (ratto/topo LKS)

1. USO PREVISTO

I riferimenti ***AESKUSLIDES***® sopra elencati sono test di immunofluorescenza indiretta utilizzati per rilevare autoanticorpi ad esempio anti-mitocondrio (AMA), diretti contro la muscolatura liscia (ASMA), anti-microsomi epatici e renali (LKM) o circolanti diretti contro le cellule parietali (APCA) nel siero umano.

2. IMPIEGO CLINICO E PRINCIPIO DEL TEST

Le malattie autoimmuni sono dovute a un'alterazione della risposta immunitaria cellulare e/o umorale. Tale risposta, normalmente diretta contro fattori esterni, può, in determinate circostanze, essere diretta contro l'organismo stesso e quindi causare varie patologie.

ANA: La presenza di anticorpi anti-nucleo può essere rilevata in qualsiasi tessuto tramite la fluorescenza dei nuclei. Ne viene inoltre sconsigliato l'uso per lo screening di pattern ANA poiché le cellule HEp-2 sono molto più sensibili e consentono il riconoscimento di molti tipi diversi di pattern.

AMA: Gli anticorpi anti - mitocondrio (AMA) reagiscono soprattutto con la membrana mitocondriale interna, ricca di fosfolipidi. Gli AMA si osservano, in particolare, nell'ambito di malattie quali la cirrosi biliare primaria, la sindrome pseudo – LE e varie forme di epatite cronica aggressiva. Alti titoli di AMA si riscontrano soprattutto nelle infezioni non suppurative della colecisti o nella cirrosi biliare primaria (risultati positivi in circa il 90% dei casi).

In queste circostanze, la presenza degli anticorpi precede la comparsa dei sintomi clinici e difficilmente viene influenzata dalla terapia nel decorso della malattia.

Bassi titoli anticorpali si osservano nello scleroderma, nella sindrome di Sjögren, nell'artrite reumatoide e in altre malattie autoimmuni.

ASMA: Gli anticorpi diretti contro la muscolatura liscia si riscontrano in diverse malattie epatiche, ad esempio nell'epatite acuta e cronica, nella cirrosi biliare primaria e in altre forme di cirrosi epatica. Inoltre, il riscontro di ASMA rafforza la diagnosi di LES, mononucleosi infettiva, carcinoma mammario e ovarico e melanoma maligno.

LKM: Gli anticorpi che si legano al citocromo p450 sono comunemente associati all'epatite autoimmune di tipo 2 che viene riscontrata prevalentemente in un sottogruppo di ragazze e giovani donne (80% di prevalenza). Possono essere associati anche all'epatite C.

APCA: Gli anticorpi circolanti diretti contro strutture delle cellule parietali della mucosa gastrica sono generalmente dovuti all'anemia perniciosa. Tuttavia, possono essere osservati anche in altre malattie gastriche (gastrite atrofica cronica, ulcera gastrica), in malattie tiroidee (tiroidite di Hashimoto, mixedema) e, più raramente, nell'anemia sideropenica, nel diabete mellito e negli anziani.

Substrato antigenico: fegato, rene o stomaco di ratto o topo/fegato o stomaco di ratto o topo

Reattività crociata: Non sono note reazioni crociate

Il rilevamento degli anticorpi è basato sul principio dell'immunofluorescenza indiretta (IIFA). I vetrini portaoggetto sono rivestiti di sezioni tessutali o cellule (cellule HEp-2 per la determinazione degli ANA, granulociti per la determinazione degli ANCA o Crithidia luciliae per la determinazione degli anticorpi anti-nDNA). Se il siero del paziente contiene anticorpi diretti contro componenti dei tessuti o delle cellule, tali anticorpi si legano al substrato fissato sul vetrino durante la prima incubazione. Dopo la rimozione del materiale non legato nella fase di lavaggio, gli anticorpi legati vengono rilevati grazie al legame con immunoglobuline anti-umane coniugate con fluorescina durante la seconda incubazione. La specifica fluorescenza verde del complesso antigene-anticorpo viene quindi esaminata al microscopio a fluorescenza.

3. PRINCIPIO DEL TEST

Per istruzioni dettagliate, fare riferimento alla procedura di test descritta del capitolo 11 del manuale comune. Per i kit Rodent Tissue verranno utilizzati i seguenti dettagli:

- Tempo di colorazione contatore: 3-5 minuti
- Titolo di screening consigliato: 1:20

4. INTERPRETAZIONE

R o M LKS / R o M KS: la sezione di tessuto combinata consente di differenziare i diversi anticorpi in un'unica area di test e può pertanto essere utilizzata come test diagnostico per i seguenti anticorpi autoimmuni. Nel caso di anticorpi diversi, è consigliabile eseguire ricerche con altri strumenti di identificazione diagnostica. L'analisi deve sempre essere condotta con i controlli positivo e negativo.

ANA: la presenza di anticorpi anti-nucleo può essere rilevata in qualsiasi tessuto tramite la fluorescenza dei nuclei.

AMA: la presenza di anticorpi anti-mitocondriali è indicata da una fluorescenza citoplasmatica granulare fine dei tubuli renali. I tubuli distali sono più ricchi di mitocondri e pertanto mostrano una fluorescenza più intensa rispetto ai tubuli prossimali.

ASMA: la presenza di ASMA è indicata da una fluorescenza delle fibre della muscolatura liscia nei vasi sanguigni di rene e stomaco, della mucosa muscolare, dei ventricoli della tunica muscolare, nonché delle fibrille contrattili interghiandolari della mucosa dello stomaco.

APCA: la presenza di APCA è indicata dalla fluorescenza granulare fine delle cellule parietali della membrana mucosa gastrica. Poiché AMA reagisce anche con le cellule parietali, è necessario escludere gli anticorpi anti-mitocondriali (tubuli renali) dalla valutazione APCA.

LKM: è visibile una caratteristica fluorescenza nel citoplasma dei tubuli renali prossimali ma non di quelli distali. Il fegato presenta una fluorescenza omogenea degli epatociti mentre non è presente alcuna fluorescenza nello stomaco.

AMA:

- 1:20-1:80 (ad esempio 10 µl di siero + 790 µl di tampone campione) - Viene riscontrata una reazione positiva in diverse patologie epatiche
- >1:160 (ad esempio 10 µl di siero + 1590 µl di tampone campione) indica cirrosi biliare. I titoli di AMA rimangono costanti per un lungo periodo e nonostante la terapia, pertanto il riscontro del titolo ai fini del controllo della terapia risulta inutile.

ASMA:

- 1:20-1:80 (ad esempio 10 µl di siero + 790 µl di tampone campione) - Viene riscontrata una reazione positiva in diverse patologie epatiche, nell'epatite virale e nella cirrosi biliare primaria. È tuttavia possibile che i titoli scendano al di sotto del livello di riscontro. È possibile osservare titoli bassi in pazienti affetti da infezioni della colecisti, cirrosi alcolica, LES e nel 2% della popolazione sana normale.
- >1:160 (ad esempio 10 µl di siero + 1590 µl di tampone campione) indica epatite attiva cronica. Rispetto all'epatite virale i titoli scendono leggermente e possono perdurare per diversi anni. Titoli alti di ASMA sono osservabili anche in pazienti affetti da mononucleosi infettiva.

APCA: il titolo APCA non fornisce informazioni sullo stato patologico del paziente. È quindi opportuno valutare il riscontro anticorpale congiuntamente alla misurazione dei risultati di fattori intrinseci e/o istopatologici.

Il titolo finale è la diluizione del siero con la quale si osserva ancora una fluorescenza positiva. Una fluorescenza debole con titoli compresi tra 1:20 e 1:40 oppure un'incertezza riguardo ai dati clinici deve essere verificata con i controlli. In tal caso, raccogliere i campioni approssimativamente ogni 3 settimane e analizzarli in modo analogo.[1]

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

5. SCHEDA DI INTERPRETAZIONE DEI DATI

LKS

Data:	Lotto:
Vetrino N°:	Operatore:

Pozzetto N°	ID	Fattore di diluizione	I.F.	Fegato	Rene		Stomaco		Nucleo	Anticorpi	Note
					Tubuli	Glomeruli	Cellule parietali	Muscolatura liscia			
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11											
12											
13											
14											
15											
16											
17											
18											

6. CONTENUTO DEI KIT STANDARD

6.1. Kit Standard

		VETRINI				CONIUGATO			CONTROLLO POSITIVO		
Rif. kit	**Descrizione kit**	**Rif.**	**Pozzetti**	**Rivestito con**	**Quantità**	**Rif.**	**Descrizione**	**Quantità**	**Rif.**	**Descrizione**	**Quantità**
517.050	**rLKS** avvolti 5 pozzetti	S517.050	5	Tessuti fegato/rene/stomaco ratto (fegato/rene avvolti in stomaco)	10 x	CDTIFA	**IgG** Tappo blu: soluzione colorata bluastra. Componente: BSA, fluoresceina (FITC) con etichetta anti-umano Anticorpo	1 x 3,5 ml	PCDTIFA	Controllo positivo AMA. Tappo rosso: soluzione incolore. Componente: siero umano (diluito), sodio azide <0,1% (conservante)	1 x 0,5 ml
517.101	**rLKS** avvolti 10 pozzetti	S517.101	10	Tessuti fegato/rene/stomaco ratto (fegato/rene avvolti in stomaco)	10 x			2 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml
517.051	**rLKS** sep. 5 pozzetti	S517.051	5	Tessuti fegato/rene/stomaco ratto (sezioni separate)	10 x			1 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml
517.100	**rLKS** sep. 10 pozzetti	S517.100	10	Tessuti fegato/rene/stomaco ratto (sezioni separate)	10 x			2 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml
518.050	**mLKS** sep. 5 pozzetti	S518.050	5	Tessuti fegato/rene/stomaco topo (sezioni separate)	10 x			1 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml
518.100	**mLKS** sep. 10 pozzetti	S518.100	10	Tessuti fegato/rene/stomaco topo (sezioni separate)	10 x			2 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml

NOTA: il contenuto degli altri componenti dei kit, ad esempio reagenti comuni (controllo negativo, liquido di montaggio ecc.), è descritto di seguito nella sezione 7 CONTENUTO DEI REAGENTI COMUNI.

7. CONTENUTO DEI REAGENTI COMUNI

a. Reagenti comuni

Ref.	Reagent	Quantity / Volume		Description	Ready to use
NCIFA	Controllo negativo	1 x	0,5 ml	Tappo verde: soluzione incolore. Componente: siero umano (diluito), sodio azide <0,1 % (conservante)	SÌ
*** EBIFA**	Blu Evans 0,2%	1 x	1,5 ml	Tappo bianco: soluzione di colore blu. Componente: PBS, blu Evans. Diluire il blu Evans allo 0,2 % 1:3000 in 1 x WBIFA	NO
**** MMIFA**	Liquido di montaggio	1 x	8 ml	Omologato per l'uso con HELMED® Tappo bianco: soluzione incolore Componente: PBS, glicerina.	SÌ
***** MMIFA. Bulk**		1 x	12 ml		
WBIFA	Tampone di lavaggio (10x)	1 x	100 ml	Tappo bianco: soluzione incolore Diluire 1:10 con acqua distillata il tampone concentrato (es. 100 ml + 900 ml). Contenente: PBS, sodio azide (conservante).	NO
SBIFA	Tampone campione	1 x	70 ml	Tappo bianco: soluzione incolore per la diluizione del siero del paziente Contenente: PBS BSA, sodio azide (conservante).	SÌ

Le quantità si riferiscono al singolo kit. (*) devono essere ordinati separatamente
(**) per 517.050, 517.051 e 518.050; (***) per 517.101, 517.100 e 518.100

b. Materiale occorrente, ma non fornito

1. Acqua distillata
2. Provette da test per la diluizione dei campioni
3. Beuta
4. Pipetta volumetrica
5. Timer
6. Microscopio a fluorescenza con sistema FITC (filtro di eccitazione 490 nm, filtro di sbarramento 510 nm)
7. Camera umida
8. Cuvetta
9. Puntali
10. Coprioggetto (24 x 60 mm)
11. spremere flacone di lavaggio

Se le informazioni sul prodotto, etichette incluse, risultassero mancanti o inesatte contattare il produttore o il fornitore del kit.

8. CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Conservare tutti i reagenti a 2-8 °C / 35,6-46,4 °F al riparo dalla luce intensa. La data di scadenza di ciascun componente è riportata sulla rispettiva etichetta. Non usare i reagenti dopo la data di scadenza.

Conservare tutti i reagenti e i vetrini a 2-8 °C / 35,6-46,4 °F nel contenitore originale. Dopo la preparazione, le soluzioni sono stabili per almeno una settimana a 2-8 °C / 35,6-46,4 °F. **I reagenti e i vetrini devono essere usati entro la data di scadenza indicata su ciascun componente.**

9. PRECAUZIONI D'USO

c. Rischi per la salute

QUESTO PRODOTTO È DESTINATO ESCLUSIVAMENTE ALL'USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

Il kit deve essere utilizzato solo da parte di personale esperto e specificamente addestrato nelle metodiche di diagnostica in vitro. Il presente prodotto non è considerato tossico o pericoloso in condizioni di utilizzo conforme all'uso previsto; tuttavia, per garantire la massima sicurezza, si rimanda a quanto segue

Raccomandazioni e precauzioni

Il kit contiene componenti potenzialmente nocivi. Benché i reagenti del kit non siano classificati come irritanti per gli occhi e la cute, si raccomanda di evitare il contatto con gli occhi e con la cute e di indossare guanti monouso. Tutti i materiali di origine umana utilizzati per alcuni reagenti del presente kit (ad es. i controlli) sono stati testati con metodi approvati e sono risultati negativi per HBsAg, epatite C e HIV. Tuttavia, nessun test può garantire con assoluta certezza l'assenza di agenti virali in tali materiali. Pertanto, i reagenti di controllo del kit e i campioni dei pazienti devono essere considerati potenzialmente infettivi e maneggiati in accordo con le normative nazionali. Il kit contiene materiale di origine animale (BSA, Immunoglobuline) come indicato nella tabella dei contenuti, gestire in base alle esigenze nazionali.

d. Istruzioni d'uso generali

1. Non pipettare con la bocca. Non fumare, mangiare o bere durante l'utilizzo del kit.
2. Non mescolare o sostituire reagenti di lotti differenti, perché ciò può alterare i risultati.
3. Dopo l'uso, chiudere con cura tutti i flaconi, per evitare contaminazioni batteriche.
4. Pipettare sempre tutte le soluzioni con nuovi puntali sterili.
5. Non esporre i componenti a temperature superiori a 37 °C / 98,6 °F (tranne MMIFA).
6. Durante l'intera procedura, non lasciar asciugare i pozzetti dei vetrini.
7. Non congelare i vetrini.

Ogni laboratorio dovrebbe determinare i propri valori di riferimento in base alle proprie metodiche, ai propri controlli, alle attrezzature impiegate e alla popolazione di pazienti.

La diagnosi clinica definitiva non deve basarsi esclusivamente sui risultati del test condotto, ma anche sulla valutazione di tutti i referti clinici e di laboratorio da parte del medico.

Nel caso in cui i valori dei controlli non corrispondano ai criteri, il test non è valido e va ripetuto. Eseguire i seguenti controlli: le date di scadenza dei reagenti (preparati), le condizioni di magazzinaggio, le pipette, i dispostivi, il fotometro, le condizioni di incubazione e i metodi di lavaggio. Nel caso in cui i risultati dei seguenti controlli non presentino alcun valore anormale o alcun tipo di deviazione, rivolgersi al produttore o al fornitore del test kit.

10. RACCOLTA, PREPARAZIONE E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Utilizzare preferibilmente campioni di siero freschi. Il prelievo di sangue deve avvenire in conformità con le normative nazionali. Effettuare i prelievi di sangue in condizioni asettiche.

I campioni lipemici, itterici, emolitici o contaminati con batteri possono causare interferenze.

Eventuali particelle presenti nel siero devono essere eliminate tramite centrifugazione a bassa velocità (<1000 x g). I campioni di sangue devono essere raccolti in provette pulite, asciutte e vuote. Dopo la separazione, i campioni di siero devono essere utilizzati immediatamente durante le prime otto ore, conservati ben chiusi a 2-8 °C / 35,6-46,4 °F per un massimo di 2 settimane oppure congelati a -20 °C / -4 °F per periodi più lunghi. Evitare di congelare e scongelare ripetutamente i campioni.

11. ESECUZIONE DEL TEST

e. Preparazione

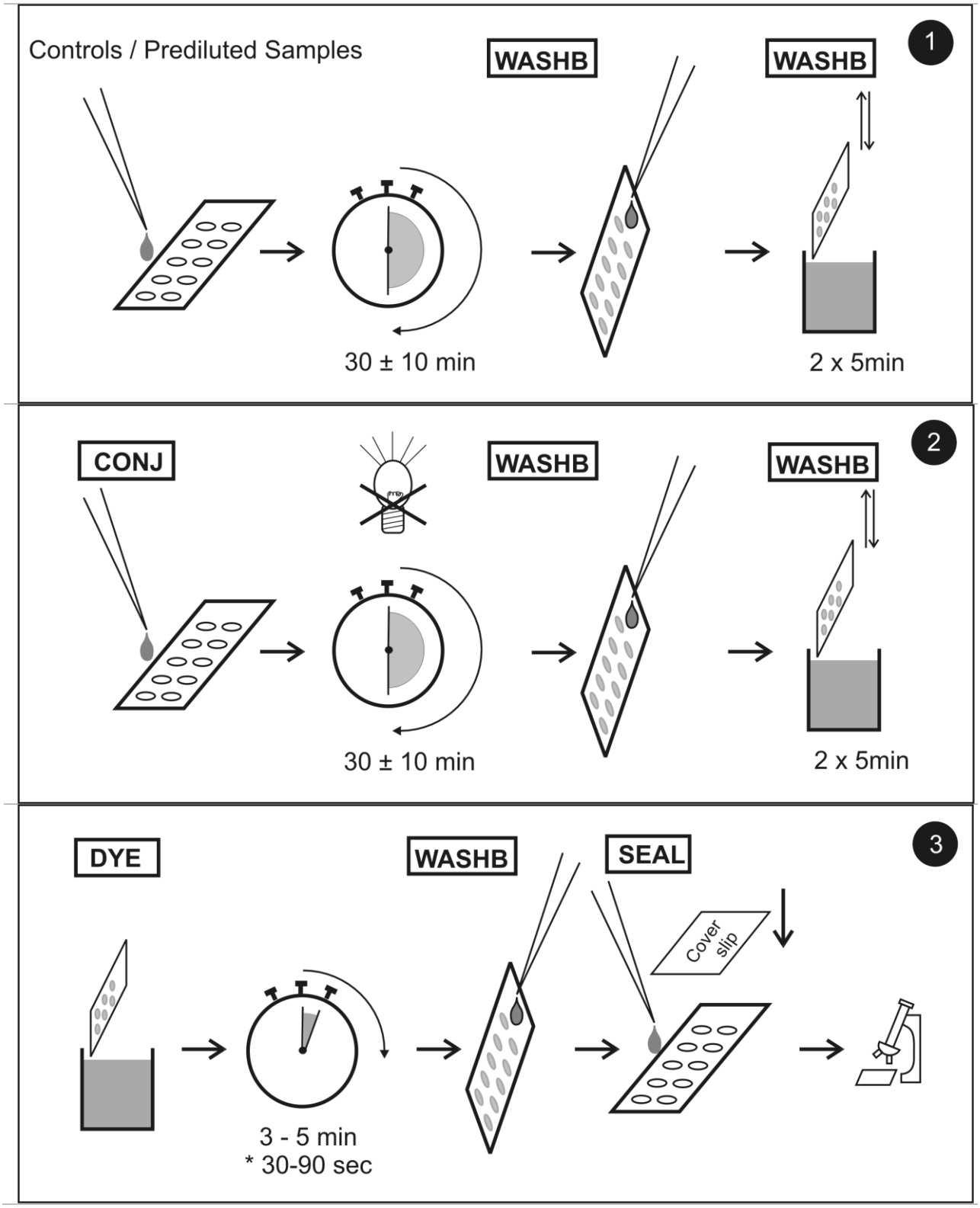
Prima dell'uso, attendere che tutti i componenti abbiano raggiunto la temperatura ambiente (20–26 °C / 68-78,8 °F), mescolare con cura e attenersi allo schema di incubazione raccomandato per una performance ottimale del test.

1. Preparazione del tampone di lavaggio: Diluire 1:10 con acqua distillata il tampone concentrato.
2. Diluizione dei campioni: Diluire i sieri paziente (per il titolo di screening fare riferimento alla sezione ***Principio del test*** più adatta in base al prodotto in uso) con tampone campione 1x. Il titolo varia a seconda del test HEp-2, nDNA, rLKS, EMA ecc.
3. I controlli sono pronti per l'uso.
4. Preparazione di un protocollo: le schede di interpretazione dati sono disponibili nella sezione ***Principio del test*** più adatta in base al prodotto in uso.
5. In caso di aumento della viscosità e/o dell'opacità, riscaldare il reagente del mezzo di montaggio (MMIFA) in bagno termostatico per 15 minuti a 56 °C / 132,8 °F, quindi riportarlo a temperatura ambiente (20–26 °C / 68-78,8 °F) prima dell'uso. Dopo questa procedura, il reagente riscaldato può essere utilizzato per un massimo di 21 giorni consecutivi, a condizione che sia conservato a una temperatura compresa tra 2-8°C / 35,6-46,4 °F, come specificato sull'etichetta del reagente e nelle istruzioni per l'uso.

f. Procedura

N°	Descrizione
1.	Estrarre i vetrini necessari dalla confezione e contrassegnarli. Non toccare i pozzetti. Non las ciar asciugare i vetrini.
2.	**Preparazione del Camera umida:** Dispensare un piccolo volume di acqua distillata o deionizzata in un vassoio di incubazione e inserire i vetrini sui supporti del vassoio stesso. Incubare i vetrini per 30 ± 10 minuti a temperatura ambiente nel vassoio di incubazione umidificato. Utilizzare tempi di incubazione coerenti per il coniugato **Prima incubazione:** Pipettare un volume adeguato di ciascun siero diluito e dei controlli (pronti per l'uso) nei rispettivi pozzetti, evitando il contatto diretto della pipetta con la superficie del vetrino. Verificare che ogni pozzetto sia completamente coperto dal siero corrispondente. È importante utilizzare una quantità di materiale sufficiente per coprire interamente il pozzetto. Evitare, però, che i sieri di pozzetti differenti si mescolino, perché ciò può essere causa di risultati errati.
3.	**Lavaggio:** Dopo l'incubazione rimuovere i vetrini dal vassoio di incubazione e lavare brevemente con tampone di lavaggio utilizzando una bottiglia con spruzzetta. Non spruzzare direttamente sui pozzetti. NOTA: Per evitare contaminazioni inclinare il vetrino lateralmente da una parte e spruzzare la soluzione di lavaggio lungo la linea mediana del vetrino stesso. Ripetere la stessa procedura inclinando il vetrino dalla parte opposta. Lavare il vetrino per 10 minuti con soluzione di lavaggio in un apposito contenitore. Evitare il contatto del substrato con parti solide. Per risultati ottimali cambiare la soluzione di lavaggio una volta dopo 5 minuti. Togliere i vetrini dal contenitore e rimuovere la soluzione di lavaggio in eccesso. NOTA: E' importante che i pozzetti non rimangano mai asciutti durante la procedura di preparazione, altrimenti si danneggerebbe il substrato.
4.	**Seconda incubazione**: Dopo il lavaggio, riporre immediatamente il vetrino portaoggetto nella camera umida e coprire ogni pozzetto con una quantità sufficiente di coniugato FITC pronto per l'uso, in modo tale che il pozzetto risulti interamente coperto. Incubare i vetrini per 30 ± 10 minuti a temperatura ambiente al buio.
5.	**Lavaggio:** Dopo l'incubazione rimuovere i vetrini dal vassoio di incubazione e lavare brevemente con tampone di lavaggio utilizzando una bottiglia con spruzzetta. Non spruzzare direttamente sui pozzetti. Lavare il vetrino per 10 minuti con soluzione di lavaggio in un apposito contenitore. Per risultati ottimali cambiare la soluzione di lavaggio una volta dopo 5 minuti.
6.	**Colorazione di contrasto facoltativa**: Diluire il colorante di contrasto (blu Evans) 1:3000 in tampone di lavaggio e miscelare con cura. Inclinare il colorante di contrasto nella cuvetta e incubarvi i vetrini. Per informazioni dettagliate sui tempi di incubazione, fare riferimento alla sezione ***Principio del test*** più adatta in base al prodotto in uso. Il blu Evans copre la fluorescenza aspecifica di fondo. Trascorso il tempo di incubazione, prelevare il vetrino e lavarlo brevemente con soluzione di lavaggio. Eliminare con cautela l'eccesso di soluzione di lavaggio rimasta sul vetrino. Non tamponare i vetrini su carta assorbente ed evitarne l'essicazione.
7.	**Montaggio**: Aggiungere un volume adeguato di mezzo di montaggio al centro di ciascun vetrino. Coprire con attenzione con il coprioggetto, evitando la formazione di bolle d'aria.
8.	**Microscopia**: Esaminare immediatamente i vetrini con ingrandimento 400 – 800 x al microscopio a fluorescenza (filtro di eccitazione 490 nm, filtro di sbarramento 510 nm).

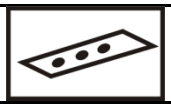
g. Flusso di lavoro



12. RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

ERRORE	CAUSE POSSIBILI	SOLUZIONE
Bassa densità cellulare	• Lisi cellulare dovuta al contatto prolungato con acqua deionizzata. • Tampone spruzzato direttamente sul substrato del pozzetto	Attenersi alla procedura di lavaggio descritta
	Enzimi proteolitici hanno attaccato il substrato	nattivare il siero
Fluorescenza non omogenea	Siero seccato nel pozzetto, fluorescenza più intensa al margine	Incubare sempre in ambiente umido
	Il siero non ha coperto correttamente il pozzetto	Aggiungere una quantità adeguata di materiale
	Reazione crociata tra i pozzetti	Evitare che nella prima incubazione si mescolino i contenuti di più pozzetti
	Pellicola sul vetrino dovuta all'uso di una matita cerata	Utilizzare una matita Controllare l'impostazione del microscopio
	Microscopio impostato non correttamente	Controllare la validità della lampada UV
Aspetto diffuso	Vetrino incubato in frigorifero senza coperchio	Sigillare il vetrino con smalto per unghie o paraffina
	icroscopio IF sporco. Eventualmente graffi sull'obiettivo	Pulire il microscopio attenendosi alle relative istruzioni
Fluorescenza debole o assente	Coniugato e vetrini scongelati e ricongelati	Conservare il coniugato e i vetrini a 2-8 °C / 35,6–46,4 °F.
	Controlli diluiti	Controllare le istruzioni, utilizzare i controlli del kit pronti per l'uso
	• Contaminazione batterica dei sieri o del coniugato • Microscopio non impostato correttamente • pH del tampone di lavaggio troppo basso (pH 7,4 ± 0,2)	Controllare questi aspetti
	Coniugato FITC esposto alla luce	Conservare il coniugato al riparo dalla luce
Fluorescenza di fondo	• Lavaggio non corretto • Vetrino asciugato • Sieri lipemici o emolitici • Errore del microscopio	• Controllare le istruzioni di lavaggio • Non lasciar asciugare i vetrini • Utilizzare solo sieri freschi • Controllare il filtro e l'obiettivo

13. SIMBOLI NORMATIVI

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	