



AESKU.DIAGNOSTICS

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKUSLIDES®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

NÁVOD K
POUŽITÍ

AESKUSLIDES® Rodent Tissues

Ref 517.xxx & 518.xxx

 AESKU.DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Ref. č. produktu	517.xxx & 518.xxx
	Popis produktu	Rodent Tissues
	Příručka, č. rev.	018: 2024-10-01

AESKUSLIDES®
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



NÁVOD K POUŽITÍ

Rodent Tissues (potkaní/myší LKS)

Standardní označení	Popis	Testy
517.050	rLKS – potkaní, sbaleno (5 jamek)	50
517.101	rLKS – potkaní, sbaleno (10 jamek)	100
517.051	rLKS – potkaní, odděleno (5 jamek)	50
517.100	rLKS – potkaní, odděleno (10 jamek)	100
518.050	mLKS – myší, odděleno (5 jamek)	50
518.100	mLKS – myší, odděleno (10 jamek)	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

 AESKU.DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Ref. č. produktu	517.xxx & 518.xxx
	Popis produktu	Rodent Tissues
	Příručka, č. rev.	018: 2024-10-01

Obsah

1. ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ	1
2. KLINICKÉ POUŽITÍ	1
3. POSTUP POUŽITÍ SOUPRAVY	2
4. INTERPRETACE	2
5. LIST INTERPRETACE DAT	4
6. OBSAH STANDARDNÍ SOUPRAVY	5
6.1. Standardní Soupravy	5
7. BĚŽNÉ REAGENCIE	6
a. Běžné reagensy	6
b. Nezbytné materiály, které nejsou součástí balení	6
8. SKLADOVÁNÍ A DOBA POUŽITELNOSTI	7
9. BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ PŘI POUŽÍVÁNÍ	7
c. Údaje týkající se zdravotních rizik	7
d. Obecné pokyny k použití	7
10. ODBĚR VZORKŮ, MANIPULACE S NIMI A JEJICH SKLADOVÁNÍ	8
11. POSTUP TESTU	8
e. Příprava před pipetováním	8
f. Provedení testu	9
g. Pracovní postup	10
12. ŘEŠENÍ POTÍŽÍ	11
13. PŘEDEPSANÉ SYMBOLY	12

 AESKU DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Ref. č. produktu	517.xxx & 518.xxx
	Popis produktu	Rodent Tissues
	Příručka, č. rev.	018: 2024-10-01

Rodent Tissues (potkaní/myší LKS)

1. ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ

Výše uvedené výrobky **AESKUSLIDES®** jsou nepřímé imunofluorescenční testy k detekci autoprotilátek proti např. mitochondriím (AMA), hladké svalovině (ASMA), mikrozomům jater, ledvin (LKM) nebo cirkulujícím parietálním buňkám (APCA) v lidském séru.

2. KLINICKÉ POUŽITÍ

Autoimunitní onemocnění jsou způsobena poruchou buněčné nebo humorální imunologické reakce. Tyto reakce, k nimž běžně dochází proti vnějším vlivům, se mohou za určitých okolností obrátit proti samotnému tělu a způsobovat tak různá onemocnění.

ANA: Přítomnost antinukleárních protilátek lze detekovat v každé poskytnuté tkáni pozitivní fluorescencí jádra. Kromě toho se nedoporučuje používat ke screeningu vzorů ANA, protože HEp-2 buňky jsou mnohem citlivější a umožňují rozpoznání několika různých typů vzorů.

AMA: Protilátky proti mitochondriím (AMA) reagují převážně s vnitřní membránou mitochondrií (bohatá na fosfolipidy). AMA se objevují hlavně u onemocnění jako primární biliární cirhóza, pseudo-LE syndrom a různé formy chronické agresivní hepatitidy. Výsledky s vysokým titrem AMA byly zjištěny zejména při nehnisavých infekcích žlučníku nebo primární biliární cirhóze (pozitivní výsledky při zhruba 90 %).

V těchto případech se protilátky objevují před klinickými příznaky a v průběhu onemocnění jsou těžko ovlivnitelné terapií.

Nízké titry protilátek jsou pozorovány u sklerodermie, Sjögrenova syndromu, revmatoidní artritidy a dalších autoimunitních onemocnění.

ASMA: Protilátky proti hladké svalovině se objevují při různých onemocněních jater, např. při akutní a chronické hepatitidě, primární biliární cirhóze a dalších formách cirhózy jater. Dále detekce ASMA podporuje diagnózu SLE, infekční mononukleózy, karcinomu prsu a vaječníků a maligního melanomu.

LKM: Protilátky, které se vážou na cytochrom p450 a jsou často spojeny s autoimunitní hepatitidou typu 2 vyskytující se převážně u podskupiny dívek a mladých žen (80 % prevalence). Mohou být spojeny také s hepatitidou C.

APCA: Cirkulující protilátky proti strukturám parietálních buněk žaludeční sliznice jsou obvykle příčinou perniciózní anémie. Je možné je však detekovat u dalších onemocnění žaludku (chronická atrofická gastritida, žaludeční vřed), onemocnění štítné žlázy (Hashimotova tyreoiditida, myxedém) a vzácněji u hypoferické anémie, diabetu mellitu a u starších pacientů.

 AESKU DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Ref. č. produktu	517.xxx & 518.xxx
	Popis produktu	Rodent Tissues
	Příručka, č. rev.	018: 2024-10-01

Antigenní charakterizace substrátu: potkaní nebo myší játra, ledviny, žaludek / potkaní nebo myší ledviny, žaludek

Zkřížená reaktivita: Zkřížené reaktivity nejsou známy.

Detekce protilátek je založena na principu nepřímého imunofluorescenčního testu (IIFA). Skleněná mikroskopická sklíčka jsou potažena řezy tkání nebo buňkami (HEp-2 buňky (ANA), granulocyty (ANCA) nebo *Crithidia luciliae* (nDNA)). Pokud sérum pacienta obsahuje specifické protilátky, naváží se na sklíčko během první inkubace. Po odstranění nevázaného materiálu promývacími kroky jsou během druhé inkubace navázané protilátky detekovány imunoglobuliny proti lidským antigenům konjugovanými s fluoresceinem. Specifické zelené fluorescenční barvení komplexu antigen-protilátka je možné pozorovat pomocí fluorescenčního mikroskopu.

3. POSTUP POUŽITÍ SOUPRAVY

Podrobné pokyny najdete v Postupu provedení testu uvedeném v Běžných pokynech, části 11. Při použití souprav Rodent Tissue dodržujte následující podrobné pokyny:

- Doba kontrastního barvení: 3–5 minut
- Doporučený screeningový titr: 1:20

4. INTERPRETACE

R nebo M-LKS / R nebo M-KS: Řez kombinované tkáně umožňuje diferenciaci různých protilátek v rámci jednoho testu a může být tedy použit jako diagnostický test pro následující autoimunitní protilátky. (V případě různých protilátek je vhodné vyhledat další diagnostické metody identifikace.) Hodnocení se musí vždy provést s pozitivní nebo negativní kontrolou.

ANA: Přítomnost antinukleárních protilátek lze detekovat v každé poskytnuté tkáni pozitivní fluorescencí jádra.

AMA: Přítomnost protilátek proti mitochondriím vykazuje jemnou granulární cytoplazmatickou fluorescenci renálních tubulů. Distální tubuly jsou bohatší na mitochondrie, a proto vykazují intenzivnější fluorescenci oproti proximálním tubulům.

ASMA: Přítomnost ASMA je indikována fluorescencí vláken hladké svaloviny krevních cév ledvin a žaludku, svalové sliznice, tunica muscularis ventriculi a také interglandulárních kontraktilních fibril žaludeční sliznice.

APCA: Jemně zrnitá fluorescence parietálních buněk v membráně žaludeční sliznice indikuje APCA. Protože AMA také reagují s parietálními buňkami, je třeba při hodnocení APCA vyloučit protilátky proti mitochondriím (renální tubuly).

LKM: Specifické barvení je vidět v cytoplazmě proximálních renálních tubulů, nikoli v cytoplazmě distálních tubulů. Játra vykazují homogenní barvení hepatocytů a v žaludku není vidět žádné barvení.

 AESKU DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Ref. č. produktu	517.xxx & 518.xxx
	Popis produktu	Rodent Tissues
	Příručka, č. rev.	018: 2024-10-01

AMA:

- 1:20–1:80 (např. 10 µl séra + 790 µl pufru pro vzorky) – k pozitivní reakci dochází u několika onemocnění jater.
- > 1:160 (např. 10 µl séra + 1 590 µl pufru pro vzorky) označuje biliární cirhózu. Titry AMA zůstávají v průběhu dlouhého období stejné bez ohledu na terapii, takže stanovení titru jako opatření ke kontrole terapie není užitečné.

ASMA:

- 1:20–1:80 (např. 10 µl séra + 790 µl pufru pro vzorky) – k pozitivní reakci dochází u několika onemocnění jater, např. virové hepatitidy a primární biliární cirhózy. Titry však mohou klesnout pod hranici stanovení. Nízké titry lze pozorovat u pacientů s infekcemi žlučníku, alkoholickou cirhózou, SLE a u 2 % normální zdravé populace.
- > 1:160 (např. 10 µl séra + 1590 µl pufru pro vzorky) – je indikována chronická aktivní hepatitida. Oproti virové hepatitidě titry klesají pouze mírně a mohou přetrvávat několik let. Pacienti s infekční mononukleózou mohou také vykazovat vysoké titry ASMA.

APCA: Titr APCA neposkytuje žádné informace o stavu onemocnění pacienta. Stanovení protilátek se musí hodnotit společně s měřením vnitřního faktoru anebo histopatologickými výsledky.

Vhodný konečný titr je ten, při kterém sérum pacienta vykazuje jednoduchou pozitivní fluorescenci. Slabá fluorescence s titry mezi 1:20 a 1:40 nebo neurčitost co se týče klinických výsledků musí být ověřena monitorovací kontrolou. V takovém případě musí být vzorky odebírány zhruba každé 3 týdny a testovány podobným způsobem.¹

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

 AESKU DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Ref. č. produktu	517.xxx & 518.xxx
	Popis produktu	Rodent Tissues
	Příručka, č. rev.	018: 2024-10-01

5. LIST INTERPRETACE DAT

LKS

Datum:	Šarže:
Č. sklíčka:	Pracovník:

Č. jamky	ID	Faktor ředění	F.I.	Játra	Ledviny		Žaludek		Jádro	Protilátky	Poznámky
					Tubuly	Glomeruly	Parietální buňky	Hladký sval			
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11											
12											
13											
14											
15											
16											
17											
18											

 AESKU DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Ref. č. produktu	517.xxx & 518.xxx
	Popis produktu	Rodent Tissues
	Příručka, č. rev.	018: 2024-10-01

6. OBSAH STANDARDNÍ SOUPRAVY

6.1. Standardní Soupravy

		SKLÍČKA				KONJUGÁT			POZITIVNÍ KONTROLA		
Označení soupravy	Popis soupravy	Označení	Jamky	Potaženo	Množství	Označení	Popis	Množství	Označení	Popis	Množství
517.050	rLKS sbalené, 5 jamek	S517.050	5	Potkaní tkáně LKS (L/K sbalené do žaludku)	10 x	CDTIFA	IgG s modrým víčkem: roztok zbarvený lehce do modra Obsah: BSA, protilátka proti lidským antigenům značená fluoresceinem (FITC)	1 x 3,5 ml	PCDTIFA	AMA pozitivní kontrola S červeným víčkem: bezbarvý roztok. Obsah: lidské sérum (naředěné), azid sodný < 0,1 % (konzervační roztok).	1 x 0,5 ml
517.101	rLKS sbalené, 10 jamek	S517.101	10	Potkaní tkáně LKS (L/K sbalené do žaludku)	10 x			2 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml
517.051	rLKS oddělené, 5 jamek	S517.051	5	Potkaní tkáně LKS (oddělené LKS řezy)	10 x			1 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml
517.100	rLKS oddělené, 10 jamek	S517.100	10	Potkaní tkáně LKS (oddělené LKS řezy)	10 x			2 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml
518.050	mLKS oddělené, 5 jamek	S518.050	5	Myší tkáně LKS (oddělené LKS řezy)	10 x			1 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml
518.100	mLKS oddělené, 10 jamek	S518.100	10	Myší tkáně LKS (oddělené LKS řezy)	10 x			2 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml
POZNÁMKA: Zbývající části souprav, tj. běžné reagencie (neg. kontrola, fixační médium atd.) jsou popsány níže v části 7 BĚŽNÉ REAGENCIE.											

 AESKU DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Ref. č. produktu	517.xxx & 518.xxx
	Popis produktu	Rodent Tissues
	Příručka, č. rev.	018: 2024-10-01

7. BĚŽNÉ REAGENCIE

a. Běžné reagenty

Označení	Reagencie	Množství /objem		Popis	Připravena k použití
NCIFA	Negativní kontrola	1 x	0,5 ml	Se zeleným víčkem: bezbarvý roztok. Obsah: lidské sérum (naředěné), azid sodný < 0,1 % (konzervační roztok).	ANO
* EBIFA	Evansova modř 0,2 %	1 x	1,5 ml	S bílým víčkem: modře zbarvený roztok. Obsah: PBS, Evansova modř. Naředěte 0,2 % Evansovu modř v poměru 1:3000 v 1× WBIFA.	NE
** MMIFA	Fixační médium	1 x	8 ml	Validováno k použití s HELMED®	ANO
*** MMIFA. Bulk		1 x	12 ml	S bílým víčkem: bezbarvý roztok. Obsah: PBS, glycerin.	
WBIFA	Promývací pufr (10×)	1 x	100 ml	S bílým víčkem: bezbarvý roztok. Naředěte koncentrovaný pufr destilovanou vodou v poměru 1:10 (např.: 100 ml + 900 ml). Obsah: PBS, azid sodný (konzervační roztok).	NE
SBIFA	Pufr pro vzorky (1×)	1 x	70 ml	S bílým víčkem: bezbarvý roztok. K ředění séra pacienta. Obsah: BSA, PBS, azid sodný (konzervační roztok).	ANO

Množství jsou uvedena na soupravu. (*) musí se objednat samostatně.

(**) pro 517.050, 517.051 a 518.050; (***) pro 517.101, 517.100 a 518.100

b. Nezbytné materiály, které nejsou součástí balení

1. Destilovaná voda
2. Zkumavky k ředění vzorku
3. Odměrná baňka
4. Odměrná pipeta
5. Stopky
6. Fluorescenční mikroskop se systémem FITC (excitační filtr – 490 nm, bariérový filtr – 510 nm)
7. Inkubátor
8. Miska na barvení
9. Pipetovací špičky
10. Krycí sklíčka (24 x 60 mm)
11. Stříčka

Pokud jsou informace o výrobku, včetně značení, chybné nebo nesprávné, kontaktujte výrobce nebo dodavatele testovací soupravy.

 AESKU DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Ref. č. produktu	517.xxx & 518.xxx
	Popis produktu	Rodent Tissues
	Příručka, č. rev.	018: 2024-10-01

8. SKLADOVÁNÍ A DOBA POUŽITELNOSTI

Všechny reagensie skladujte při teplotě 2–8 °C / 35,6–46,4 °F chráněné před intenzivním světlem. Datum expirace každé části je uvedeno na příslušném štítku. Po uplynutí data expirace reagensie nepoužívejte.

Všechny reagensie a sklíčka skladujte při teplotě 2–8 °C / 35,6–46,4 °F v jejich původních obalech. Jakmile jsou rekonstituované roztoky připravené, jsou stabilní po dobu minimálně 1 týdne při teplotě 2–8 °C / 35,6–46,4 °F. **Reagensie a sklíčka se mohou používat pouze do data expirace uvedeného na každé části.**

9. BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ PŘI POUŽÍVÁNÍ

c. Údaje týkající se zdravotních rizik

TENTO VÝROBEK JE URČEN POUZE K DIAGNOSTICKÉMU POUŽITÍ IN VITRO. Proto mohou soupravu používat pouze pracovníci speciálně vyškolení v metodách in vitro diagnostiky. Ačkoli se výrobek nepovažuje za zvlášť toxický ani nebezpečný v podmínkách zamýšleného použití, k zachování maximální bezpečnosti postupujte podle následujících doporučení:

Doporučení a bezpečnostní opatření

Tato souprava obsahuje potenciálně nebezpečné části. Ačkoli nejsou reagensie soupravy klasifikovány jako dráždivé na oči a kůži, doporučujeme nosit jednorázové rukavice a vyhnout se kontaktu s očima a kůží.

Veškerý materiál lidského původu použitý pro některé reagensie této soupravy (např. kontroly) byl testován schválenými metodami a shledán negativním na HBsAg, hepatitidu C a HIV. Žádný test však nemůže zcela zaručit nepřítomnost virových agens v tomto materiálu. S kontrolami souprav a vzorky pacientů proto zacházejte v souladu se státními požadavky, a jako kdyby mohly přenášet infekční onemocnění. Souprava obsahuje materiál zvířecího původu (BSA, imunoglobulin), jak je uvedeno v obsahu. Zacházejte s ní v souladu se státními požadavky.

d. Obecné pokyny k použití

1. Nepipetujte ústy. Při manipulaci se soupravou nekuřte, nejezte ani nepijte.
2. Nemíchejte reagensie s reagensiemi s odlišným číslem šarže ani je jimi nenahrazujte. Mohlo by to vést k odchylkám ve výsledcích.
3. Po použití uchovávejte všechny baňky zavřené, aby nedošlo k bakteriální kontaminaci.
4. Všechny roztoky vždy pipetujte pomocí nových sterilních pipetovacích špiček.
5. Části nikdy nevystavujte vyšším teplotám než 37 °C / 98,6 °F (kromě MMIFA).
6. Během celé doby postupu dávejte vždy pozor, aby jamky sklíčka nevyschly.
7. Sklíčka nikdy nevystavujte mrazu.

Každá laboratoř si musí stanovit vlastní interní kontroly pro vlastní techniky, kontroly, vybavení a populaci pacientů podle zavedených postupů.

Konkrétní klinická diagnóza nesmí být založena pouze na výsledcích provedeného testu. Musí být stanovena lékařem po zhodnocení všech klinických a laboratorních nálezů.

 AESKU DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Ref. č. produktu	517.xxx & 518.xxx
	Popis produktu	Rodent Tissues
	Příručka, č. rev.	018: 2024-10-01

Pokud hodnoty kontrol nesplňují kritéria, test je neplatný a musí se opakovat. Je třeba zkontrolovat následující technické záležitosti: Data expirace (připravených) reagentů, skladovací podmínky, pipety, prostředky, fotometr, inkubační podmínky a způsoby promývání. Pokud testované položky vykazují abnormální hodnoty či jakýkoli druh odchylky nebo pokud nejsou bez opodstatněného důvodu splněna kritéria validace, kontaktujte místního zástupce.

10. ODBĚR VZORKŮ, MANIPULACE S NIMI A JEJICH SKLADOVÁNÍ

Příprava vzorků: Ideální je používat čerstvě odebrané vzorky séra. Odběr krve se musí provést podle státních požadavků. Vzorky krve odeberte asepticky.

Lipemické, ikterické, hemolyzované nebo mikrobiálně kontaminované vzorky mohou způsobit interferenci.

Séra s částicemi se musí vyčistit odstředěním nízkou rychlostí (< 1000× g). Vzorky krve se musí odebírat do čistých, suchých a prázdných zkumavek. Po separaci se vzorky séra musí použít během prvních 8 hodin, respektive jsou-li pevně uzavřené, je možné je skladovat až 48 hodin při teplotě 2–8 °C / 35,6–46,4 °F nebo zmrazené při teplotě –20 °C / –4 °F po delší dobu. Vzorky opakovaně nezmrazujte a nerozmrazujte.

11. POSTUP TESTU

e. Příprava před pipetováním

Pokud chcete dosáhnout optimální výkonnosti testu, nechte před použitím všechny části dosáhnout pokojové teploty (20–26 °C / 68–78,8 °F), dobře zamíchejte a postupujte podle doporučeného schématu inkubace.

1. Příprava promývacího pufru: Naředte koncentrovaný pufr destilovanou vodou v poměru 1:10.
2. Ředění vzorků: Naředte séra pacienta (screeningový titr viz část **Postup použití soupravy** v souladu s označením výrobku, který používáte) pomocí pufru pro vzorky (1x). U souprav HEp-2, nDNA, rLKS, EMA atd. mohou být titry odlišné.
3. Kontroly jsou připraveny k použití.
4. Připravte protokol: Listy interpretace dat jsou k dispozici v části **Postup použití soupravy** podle označení výrobku, který používáte.
5. V případě zvýšené viskozity a/nebo neprůhlednosti je třeba reagentů fixačního média (MMIFA) před použitím zahřát na 15 minut ve vodní lázni při teplotě 56 °C / 132,8 °F a poté počkat, až dosáhne pokojové teploty (20–26 °C / 68–78,8 °F). Po tomto postupu lze zahřátou reagentii používat až 21 po sobě jdoucích dnů, a to za předpokladu, že je skladována při teplotě 2–8 °C / 35,6–46,4 °F, jak je uvedeno na štítku reagentie a v návodu k použití.

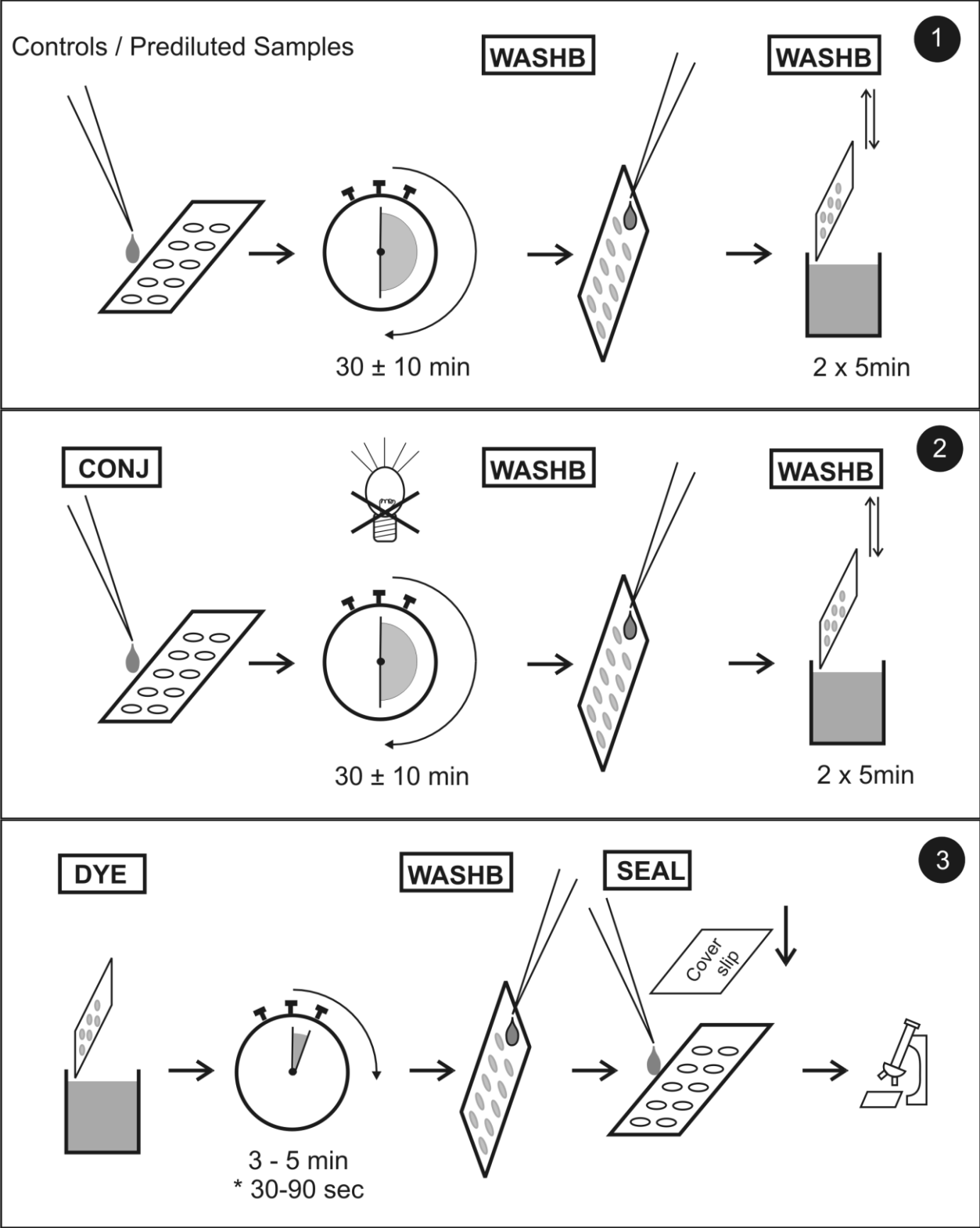
 AESKU DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Ref. č. produktu	517.xxx & 518.xxx
	Popis produktu	Rodent Tissues
	Příručka, č. rev.	018: 2024-10-01

f. Provedení testu

Č.	Popis kroku
1.	Vytáhněte požadovaná sklíčka z obalu a označte je. Nedotýkejte se jamek. Nenechte sklíčka vyschnout.
2.	Příprava inkubátoru: Do inkubátoru umístěte malý objem deionizované nebo destilované vody a vložte sklíčka na podpěry inkubátoru. Sklíčka inkubujte při pokojové teplotě ve vlhkém inkubátoru 30 minut $\pm$ 10 minut. U konjugátu použijte stejné inkubační doby. První inkubace: Do příslušných jamek napipetujte přiměřený objem každého naředěného séra a kontrol (připraveny k použití). Pipetou se během toho přímo nedotýkejte povrchu sklíčka. Zkontrolujte, zda je každá jamka úplně zakrytá odpovídajícím sérem. Je důležité použít tolik testovaného materiálu, kolik je potřeba k úplnému zakrytí jamky. Dbejte však na to, aby kapalina mezi jamkami neproudila. Mohlo by to vést k nesprávným výsledkům.
3.	Promytí: Po inkubaci vytáhněte sklíčka z inkubátoru a pomocí stříčky proveďte krátké opláchnutí promývacím puřem. Nestříkejte puř přímo na jamky. POZNÁMKA: Aby nedošlo ke zkřížené kontaminaci nakloňte sklíčko nejprve směrem k jedné řadě, opatrně nechte promývací puř téct podél středu sklíčka a odtéct dolním okrajem sklíčka. Poté nakloňte sklíčko směrem k další řadě a postup opakujte. Nechte promývací puř odtéct v místě, kde se nyní nachází dolní okraj sklíčka. Sklíčka omývejte 10 minut promývacím puřem v misce na barvení sklíček. Dávejte pozor, aby nedošlo k přímému kontaktu pevných částí a substrátu. Pokud chcete docílit optimálních výsledků, puřovací roztok jednou za 5 minut vyměňte. Vytáhněte sklíčka z misky na barvení a opatrně odstraňte přebytečný promývací puř. POZNÁMKA: Je důležité, abyste nenechali jamky sklíčka během postupu vyschnout. Mohlo by to poškodit substrát. Žádným způsobem sklíčko neodsávejte a nesušte ani ho nenechávejte ustát bez reagencie fluorescenční protilátky déle než několik sekund.
4.	Druhá inkubace: Po postupu promytí vraťte sklíčko ihned do inkubátoru, zakryjte každou jamku odpovídajícím množstvím konjugátu FITC a zkontrolujte, zda jsou jamky úplně zakryté. Sklíčka inkubujte při pokojové teplotě v temnu 30 minut $\pm$ 10 minut.
5.	Promytí: Po inkubaci vytáhněte sklíčka z inkubátoru a pomocí stříčky proveďte krátké opláchnutí promývacím puřem. Nestříkejte puř přímo na jamky. Sklíčka omývejte 10 minut promývacím puřem v misce na barvení sklíček. Pokud chcete docílit optimálních výsledků, puřovací roztok jednou za 5 minut vyměňte.
6.	* Volitelné kontrastní barvení: Naředte kontrastní barvivo (Evansova modř) promývacím puřem v poměru 1:3000 a dobře promíchejte. Kontrastní barvení vylijte do misky na barvení a inkubujte v ní sklíčka. Konkrétní inkubační dobu najdete v části Postup použití soupravy podle označení výrobku, který používáte. Evansova modř pokryje nespecifickou fluorescenci pozadí. Po uplynutí inkubační doby sklíčka vyjměte a krátce je opláchněte promývacím roztokem. Odstraňte přebytečný promývací roztok. Žádným způsobem sklíčko neodsávejte ani nesušte.
7.	Fixační médium: Přidejte dostatečné množství fixačního média podél středu každého sklíčka. Krycí sklíčko umísťte opatrně, aby nedošlo ke vzniku vzduchových bublin.
8.	Čtení: Sklíčka prohlédněte ihned při celkovém 400–800násobném zvětšení pomocí fluorescenčního mikroskopu (excitační filtr – 490 nm, bariérový filtr – 510 nm).

 AESKU.DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Ref. č. produktu	517.xxx & 518.xxx
	Popis produktu	Rodent Tissues
	Příručka, č. rev.	018: 2024-10-01

g. Pracovní postup



 AESKU.DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Ref. č. produktu	517.xxx & 518.xxx
	Popis produktu	Rodent Tissues
	Příručka, č. rev.	018: 2024-10-01

12. ŘEŠENÍ POTÍŽÍ

CHYBA	MOŽNÉ PŘÍČINY	ŘEŠENÍ
Nízká hustota buněk	- Lýza buněk po dlouhotrvajícím kontaktu s deionizovanou vodou. - Pufr byl nastříkán přímo na substrát v jamce.	Postupujte podle doporučeného promývacího postupu.
	Proteolytické enzymy napadly substrát.	Inaktivní sérum.
Nerovnoměrná fluorescence	Sérum je zaschlé v jamkách, fluorescence je silnější na okraji.	Vždy inkubujte ve vlhkém prostředí.
	Sérum nezakrývá testovací jamku.	Použijte dostatečný objem testovaného materiálu.
	Zkřížená reakce mezi jamkami.	Při první inkubaci dejte pozor, aby nedošlo k proudění kapaliny mezi jamkami.
	Označení sklíčka voskovou tužkou vytváří na sklíčku film.	Použijte obyčejnou (nevoskovou) tužku.
	Mikroskop není správně nastavený.	Zkontrolujte nastavení UV lampy.
Difuzní obraz	Sklíčko bylo inkubováno v chladničce bez zakrytí.	Utěsněte sklíčko lakem na nehty nebo parafínovým voskem.
	I.F. mikroskop je špinavý. Možné poškrábání čočky.	Mikroskop vyčistěte podle pokynů.
Malá nebo žádná fluorescence	Konjugát a sklíčka byly rozmrazeny a znovu zmrazeny.	Konjugát a sklíčka skladujte při teplotě 2–8 °C / 35,6–46,4 °F.
	Kontroly byly naředěny.	Nahlédněte do pokynů, použijte kontroly soupravy připravené k použití.
	- Bakteriální kontaminace séra nebo konjugátu. - Mikroskop není nastavený. - Hodnota pH promývacího roztoku je příliš nízká (hodnota pH 7,4 ± 0,2).	Zkontrolujte podmínky.
	Konjugát FITC byl vystaven světlu.	Konjugát skladujte chráněný před světlem.
Fluorescence pozadí	- Nesprávné promytí. - Vysušené sklíčko. - Lipemická, hemolytická séra. - Chyba mikroskopu.	- Nahlédněte do pokynů k promývání. - Nenechte sklíčko vyschnout. - Používejte pouze čerstvá séra. - Zkontrolujte, zda máte správný filtr/objektiv.

 AESKU.DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Ref. č. produktu	517.xxx & 518.xxx
	Popis produktu	Rodent Tissues
	Příručka, č. rev.	018: 2024-10-01

13. PŘEDEPSANÉ SYMBOLY

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	- K diagnostickému použití in vitro
REF	- Numero d'ordine	- Catalogue number
	- Référence Catalogue	- Numéro de catálogo
	- Katalognummer	- Αριθμός παραγγελίας
	- Número de catálogo	- Katalogové číslo
LOT	- Descrizione lotto	- Lot
	- Lot	- Lote
	- Chargen Bezeichnung	- Χαρακτηρισμός παρτίδας
	- Lote	- Šarže
CE	- Conformità europea	- EC Declaration of Conformity
	- Déclaration CE de Conformité	- Declaración CE de Conformidad
	- Europäische Konformität	- Ευρωπαϊκή συμφωνία
	- Declaração CE de conformidade	- ES prohlášení o shodě
	- 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 instruções de uso	- Viz návod k použití
	- Da utilizzarsi entro	- Use by
	- Utilise avant le	- Utilizar antes de
	- Verwendbar bis	- Χρήση μέχρι
	- Utilizar antes de	- Spotřebujte do
	- 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)	- Skladujte při teplotě 2–8 °C (35,6–46,4 °F)
	- Prodotto da	- Manufactured by
	- Fabriqué par	- Fabricado por
	- Hergestellt von	- Κατασκευάζεται από
	- Fabricado por	- Vyrábí
DYE	- Colorante Blue-Evans	- Evans-Blue Dye
	- coloration au Bleu Evans	- Colorante Azul de Evans
	- Evans-Blue Färbelösung	- Evans Blue
	- Evans Blue	- Barvivo Evansova modř
CONTROL +	- Controllo positivo	- Positive Control
	- Contrôle Positif	- Control Positivo
	- Positiv Kontrolle	- Θετικός ορός ελέγχου
	- Controllo positivo	- Pozitivní kontrola
CONTROL -	- Controllo negativo	- Negative Control
	- Contrôle Négatif	- Control Negativo
	- Negativ Kontrolle	- Αρνητικός ορός ελέγχου
	- Controllo negativo	- Negativní kontrola
SEAL	- Mezzi di montaggio	- Mounting media
	- milieu de montage	- Medio de montaje
	- Mounting Medium	- Μέσο μονιμοποίησης
	- Meio de montagem	- Fixační média
CONJ	- Coniugato	- Conjugate
	- Conjugé	- Conjugado
	- Konjugat	- Σύζευγμα
	- Conjugado	- Konjugát
	- Vetrino per microscopio	- Microscope slide
	- lame de microscope	- Portaobjetos
	- Objektträger	- Αντικειμενοφόρο πλακίδιο
	- Lâmina	- Mikroskopické sklíčko
WASHB 10x	- Tampone di lavaggio	- Wash Buffer
	- Tampon de Lavage	- Solución de lavado
	- Waschpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	- Solução de lavagem	- Promývací pufr
SB 1x	- Tampone di campione	- Sample Buffer
	- Tampon de Echantillons	- Solución de muestras
	- Probenpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	- Solução para amostras	- Pufr pro vzorky
	- Numero di determinazioni	- Number of determinations
	- Nombre de déterminations	- Número de determinaciones
	- Anzahl der Prüfungen	- Αριθμός προσδιορισμών
	- Número de determinações	- Počet determinací