



AESKU.DIAGNOSTICS

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKUSLIDES®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

MANUAL DE INSTRUCCIONES

AESKUSLIDES® Rodent Tissues

Ref 517.xxx & 518.xxx



AESKUSLIDES[®]
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



MANUAL DE INSTRUCCIONES

Rodent Tissues (rata/ratón LKS)

Ref. estándar	Descripción	Ensayos
517.050	rLKS - rata, envuelto (5 pocillos)	50
517.101	rLKS - rata, envuelto (10 pocillos)	100
517.051	rLKS - rata, separado (5 pocillos)	50
517.100	rLKS - rata, separado (10 pocillos)	100
518.050	mLKS - ratón, separado (5 pocillos)	50
518.100	mLKS - ratón, separado (10 pocillos)	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 <small>THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS</small>	Referencia del producto	517.xxx & 518.xxx
	Nombre del producto	Rodent Tissues
	Manual número de rev.	018: 2024-10-01

Índice de contenidos

1.	USO PREVISTO	1
2.	APLICACIÓN CLÍNICA	1
3.	PROCEDIMIENTO CON EL KIT	2
4.	INTERPRETACIÓN	2
5.	HOJA DE INTERPRETACIÓN DE DATOS	4
6.	CONTENIDO DEL KIT ESTÁNDAR	5
6.1.	Kits Estándar	5
7.	CONTENIDO DE REACTIVOS COMUNES	6
a.	Reactivos comunes	6
b.	Materiales necesarios no suministrados	6
8.	ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL	7
9.	ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES	7
c.	Riesgos para la salud	7
d.	Instrucciones generales	7
10.	OBTENCIÓN, PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS	8
11.	PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO	8
e.	Preparación	8
f.	Procedimiento de la prueba	9
g.	Flujo de trabajo	10
12.	SOLUCIÓN DE PROBLEMAS	11
13.	SÍMBOLOS REGLAMENTARIOS	12

 AESKU DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Referencia del producto	517.xxx & 518.xxx
	Nombre del producto	Rodent Tissues
	Manual número de rev.	018: 2024-10-01

Rodent Tissues (rata/ratón LKS)

1. USO PREVISTO

Las anteriores referencias de **AESKUSLIDES®** son ensayos mediante inmunofluorescencia indirecta para detectar autoanticuerpos frente a, por ejemplo, mitocondrias (AMA), músculo liso (ASMA), microsomas hepáticos y renales (LKM) o células parietales circulantes (APCA) en suero humano.

2. APLICACIÓN CLÍNICA

Las enfermedades autoinmunitarias son causadas por un trastorno de la respuesta inmunitaria celular o humoral, o de ambas. Estas respuestas, que normalmente tienen lugar contra factores externos, pueden en ciertas circunstancias dirigirse contra el propio organismo y causar así diversas enfermedades.

ANA La presencia de anticuerpos antinucleares puede detectarse en todos los cortes de tejidos por una fluorescencia nuclear. Además, no se recomienda su uso para el tamizaje de patrones de ANA, ya que las células HEp-2 son mucho más sensibles y permiten reconocer varios tipos diferentes de patrones.

AMA Los anticuerpos antimitocondriales (AMA) reaccionan de forma predominante con la membrana interna de las mitocondrias (de alto contenido fosfolipídico). Los AMA aparecen principalmente en enfermedades como la cirrosis biliar primaria, el síndrome seudolúpico y diversas formas de hepatitis crónica agresiva. Los títulos altos de AMA se encuentran principalmente en infecciones no supuradas de la vesícula biliar o en la cirrosis biliar primaria (resultados positivos en aproximadamente el 90% de los casos).

En estos casos, los anticuerpos aparecen antes que los síntomas clínicos y difícilmente son afectados por el tratamiento durante la evolución de la enfermedad.

En la esclerodermia, síndrome de Sjögren, artritis reumatoide y otras enfermedades autoinmunitarias se encuentran bajos títulos de estos anticuerpos.

ASMA Los anticuerpos contra el músculo liso se encuentran en numerosas enfermedades hepáticas; por ejemplo en las hepatitis agudas y crónicas, la cirrosis biliar primaria y otras formas de cirrosis hepática. Además, la detección de ASMA es útil para el diagnóstico de LES, de mononucleosis infecciosa, de los carcinomas de mama y de ovario y de melanomas malignos.

LKM: Los anticuerpos que se unen al citocromo p450 se asocian comúnmente con la hepatitis autoinmunitaria de tipo 2, que se presenta predominantemente en un subgrupo de mujeres adolescentes y jóvenes (prevalencia del 80%). También se pueden asociar con la hepatitis C.

APCA Los anticuerpos circulantes dirigidos contra las estructuras de las células parietales de la mucosa gástrica se relacionan, en general, a la presencia de una anemia perniciosa. Sin embargo, también pueden detectarse en otras enfermedades del estómago (gastritis atrófica crónica, úlcera gástrica), enfermedades tiroideas (tiroiditis de Hashimoto, mixedema) y, más raramente, en la anemia por deficiencia de hierro, diabetes mellitus y en pacientes ancianos.

 AESKU DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Referencia del producto	517.xxx & 518.xxx
	Nombre del producto	Rodent Tissues
	Manual número de rev.	018: 2024-10-01

Sustrato de caracterización del antígeno: hígado, riñón, estómago de rata o ratón; riñón, estómago de rata o ratón

Reacciones cruzadas: No se conoce la existencia de reacciones cruzadas

La prueba se basa en el principio de inmunofluorescencia indirecta: los portaobjetos están cubiertos con cortes de tejidos o células (células HEP-2 para la determinación de ANA, granulocitos para la determinación de ANCA o *Crithidia luciliae* para la determinación de anticuerpos anti-nDNA). Si el suero del paciente contiene anticuerpos contra componentes de los tejidos o las células, se unirán al sustrato correspondiente sobre el portaobjetos durante la primera incubación. Los componentes del suero no unidos se eliminan mediante un paso de lavado. Los anticuerpos del paciente que quedan unidos se detectan en un segundo paso de incubación con un suero antiinmunoglobulina humana conjugado con fluoresceína, que se unirán a los anticuerpos del paciente y se hacen visibles a través de su colorante fluorescente. Como resultado, los complejos antígeno-anticuerpo presentan una fluorescencia específica de color verde, que puede visualizarse mediante un microscopio de fluorescencia.

3. PROCEDIMIENTO CON EL KIT

Consulte el Procedimiento del ensayo indicado en el Manual común, Sección 11, para obtener instrucciones detalladas. Para los kits de tejidos de roedores, debe utilizarse la siguiente información:

- Tiempo de tinción de contraste: de 3 a 5 minutos
- Título de tamizaje recomendado: 1:20

4. INTERPRETACIÓN

R o M-LKS / R o M-KS: La sección del tejido combinado permite la diferenciación de diversos anticuerpos dentro de una zona de ensayo y puede, por lo tanto, aplicarse como ensayo de diagnóstico para los siguientes anticuerpos autoinmunitarios. (En el caso de distintos anticuerpos, se recomienda ampliar la identificación de diagnóstico). La evaluación debe realizarse siempre con los controles positivo y negativo.

ANA: Puede detectarse la presencia de anticuerpos antinucleares en cada tejido suministrado mediante fluorescencia nuclear positiva.

AMA: La presencia de anticuerpos antimitocondriales se ve indicada por una fluorescencia citoplasmática granular fina de los túbulos renales. Los túbulos distales contienen más mitocondrias y, por tanto, muestran una fluorescencia más intensa en comparación con los túbulos proximales.

ASMA: La presencia de ASMA está indicada por una fluorescencia de las fibras del músculo liso de los vasos sanguíneos del riñón y el estómago, de la mucosa muscular, de la túnica muscular gástrica, así como de las fibrillas contráctiles interglandulares de la mucosa gástrica.

 AESKU DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Referencia del producto	517.xxx & 518.xxx
	Nombre del producto	Rodent Tissues
	Manual número de rev.	018: 2024-10-01

APCA: La fluorescencia granular fina de las células parietales en la membrana mucosa gástrica indica APCA. Como AMA reacciona también con las células parietales, deben excluirse los anticuerpos antimitocondriales (túbulos renales) de la evaluación de APCA.

LKM: Se observa una tinción específica en el citoplasma de los túbulos renales proximales pero no en los distales. El hígado muestra una tinción homogénea de los hepatocitos y no se observa ninguna tinción en el estómago.

AMA:

- 1:20-1:80 (por ejemplo, 10 µl de suero + 790 µl de solución de tampón para muestra) En diversas enfermedades hepáticas, se observa una reacción positiva.
- >1:160 (por ejemplo, 10 µl de suero + 1590 µl de solución de tampón para muestra) indica cirrosis biliar. Los títulos de AMA se mantienen constantes durante un periodo de tiempo prolongado y a pesar del tratamiento, por lo que la determinación del título como medida de control del tratamiento no resulta útil.


ASMA:

- 1:20-1:80 (por ejemplo, 10 µl de suero + 790 µl de solución de tampón para muestra) En diversas enfermedades hepáticas, hepatitis viral y cirrosis biliar primaria, se observa una reacción positiva. No obstante, los títulos mostrados pueden quedar por debajo del límite de determinación. Pueden observarse títulos bajos en pacientes con infecciones de vesícula biliar, cirrosis alcohólica, LES y en el 2% de la población normal sana.
- >1:160 (por ejemplo, 10 µl de suero + 1590 µl de solución de tampón para muestra) Indica hepatitis crónica activa. En contraste con la hepatitis viral, los títulos descienden sólo ligeramente y pueden mantenerse durante años. Los pacientes con mononucleosis infecciosa pueden mostrar también títulos de ASMA elevados.

APCA: El título de APCA no proporciona información alguna acerca del estado de la enfermedad del paciente. La determinación de anticuerpos se debe evaluar junto con la medición del factor intrínseco y/o los resultados de histopatología.

El título final adecuado es aquel en el que el suero del paciente muestra una fluorescencia positiva sencilla. Una fluorescencia débil con títulos entre 1:20 y 1:40 o la imprecisión respecto a los resultados clínicos deberán comprobarse mediante supervisión. En ese caso, las muestras deben tomarse aproximadamente cada 3 semanas y analizarse del mismo modo.¹

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

 AESKU DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Referencia del producto	517.xxx & 518.xxx
	Nombre del producto	Rodent Tissues
	Manual número de rev.	018: 2024-10-01

5. HOJA DE INTERPRETACIÓN DE DATOS

LKS

Fecha:	Lote:
Portaobjetos n.º:	Técnico:

Pocillo n.º	ID	Factor de dilución	F.I.	Hígado	Riñón		Estómago		Núcleo	Anticuerpos	Comentarios
					Túbulos	Glomérulos	Células parietales	Músculo liso			
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11											
12											
13											
14											
15											
16											
17											
18											



Referencia del producto	517.xxx & 518.xxx
Nombre del producto	Rodent Tissues
Manual número de rev.	018: 2024-10-01

6. CONTENIDO DEL KIT ESTÁNDAR

6.1. Kits Estándar

Ref. del kit	Descripción del kit	PORTAOBJETOS				CONJUGADO			CONTROL POSITIVO		
		Ref.	Pocillos	Recubiertos con	Cantidad	Ref.	Descripción	Cantidad	Ref.	Descripción	Cantidad
517.050	rLKS envuelto. 5 pocillos	S517.050	5	Tejidos LKS de rata (L/K envueltos en estómago)	10 x	CDTIFA	IgG Tapón azul: solución ligeramente azulada. Contiene: BSA, Fluoresceína (FITC)-anti-humano marcado anticuerpo	1 x 3,5 ml	PCDTIFA	Control positivo de AMA Tapón rojo: solución incolora. Contiene: suero humano (diluido), azida sódica <0,1 % (conservante)	1 x 0,5 ml
517.101	rLKS envuelto. 10 pocillos	S517.101	10	Tejidos LKS de rata (L/K envueltos en estómago)	10 x			2 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml
517.051	rLKS separado, 5 pocillos	S517.051	5	Tejidos LKS de rata (secciones LKS separadas)	10 x			1 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml
517.100	rLKS separado, 10 pocillos	S517.100	10	Tejidos LKS de rata (secciones LKS separadas)	10 x			2 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml
518.050	mLKS separado, 5 pocillos	S518.050	5	Tejidos LKS de ratón (secciones LKS separadas)	10 x			1 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml
518.100	mLKS separado, 10 pocillos	S518.100	10	Tejidos LKS de ratón (secciones LKS separadas)	10 x			2 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml

NOTA: el contenido del resto de los componentes de los kits, es decir, reactivos comunes (control negativo, medio de montaje, etc.) se describe más adelante en la sección 7 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS COMUNES.

 AESKU DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Referencia del producto	517.xxx & 518.xxx
	Nombre del producto	Rodent Tissues
	Manual número de rev.	018: 2024-10-01

7. CONTENIDO DE REACTIVOS COMUNES

a. Reactivos comunes

Ref.	Reactivo	Cantidad / Volumen		Descripción	Preparado para usar
NCIFA	Control negativo	1 x	0,5 ml	Tapón verde: solución incolora. Contiene: suero humano (diluido), azida sódica <0,1 % (conservante)	SÍ
* EBIFA	Azul de Evans 0,2 %	1 x	1,5 ml	Tapón blanco: solución de color azul Contiene: PBS, azul de Evans. Diluya el azul de Evans 0,2 % a 1:3000 en 1 WBIFA	NO
** MMIFA	Medio de montaje	1 x	8 ml	Validado para su uso con HELMED® Tapón blanco: solución incolora. Contiene: PBS, glicerina.	SÍ
*** MMIFA. Bulk		1 x	12 ml		
WBIFA	Solución de tampón para lavado (10x)	1 x	100 ml	Tapón blanco: solución incolora. Diluya la solución de tampón concentrada a 1:10 en agua destilada (por ejemplo: 100 ml + 900 ml). Contiene: PBS, azida sódica (conservante).	NO
SBIFA	Solución de tampón para muestra	1 x	70 ml	Tapón blanco: solución incolora. para la dilución de los sueros de paciente Contiene: BSA, PBS, azida sódica (conservante).	SÍ

Las cantidades son por kit. (*) debe pedirse por separado.

(**) por 517.050, 517.051 y 518.050; (***) por 517.101, 517.100 y 518.100

b. Materiales necesarios no suministrados

1. Agua destilada
2. Tubos de ensayo para dilución de muestras
3. Frasco para medición
4. Pipeta volumétrica
5. Temporizador
6. Microscopio de fluorescencia con sistema FITC, (filtro de excitación de 490 nm, filtro de barrera de 510 nm)
7. Bandeja de incubadora
8. Plato de tinciones
9. Puntas de pipeteado
10. Cubreobjetos (24 x 60 mm)
11. exprimir frasco lavador

En caso de que observe defectos o datos incorrectos en la información del producto, incluidas las etiquetas, póngase en contacto con el fabricante o proveedor del producto.

 AESKU DIAGNOSTICS <small>THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS</small>	Referencia del producto	517.xxx & 518.xxx
	Nombre del producto	Rodent Tissues
	Manual número de rev.	018: 2024-10-01

8. ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL

Almacene todos los reactivos entre 2-8 °C / 35,6-46,4 °F, protegidos de la luz intensa. La fecha de caducidad de cada componente se indica en la etiqueta correspondiente. No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad.

Almacene todos los reactivos y los portaobjetos entre 2-8 °C / 35,6-46,4 °F, en los contenedores originales. Una vez preparadas, las soluciones reconstituidas permanecen estables durante al menos una semana a una temperatura entre 2-8 °C / 35,6-46,4 °F. **Los reactivos y los portaobjetos deben usarse sólo antes de la fecha de caducidad que figura en cada componente.**

9. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

c. Riesgos para la salud

ESTE PRODUCTO DEBE UTILIZARSE SÓLO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO. Sólo el personal capacitado y específicamente informado sobre métodos de diagnóstico in vitro puede usar el kit. Los reactivos contenidos en este producto no se consideran tóxicos ni peligrosos cuando se usan según las instrucciones; a pesar de ello, para garantizar la máxima seguridad para el usuario respete las siguientes:

Recomendaciones y precauciones

Este kit contiene reactivos potencialmente peligrosos. Aunque los reactivos del kit no están clasificados como irritantes de la piel y los ojos, se recomienda evitar el contacto con los mismos y usar guantes desechables.

Todo el material de origen humano utilizado para algunos de los reactivos de este kit (por ejemplo, controles) se ha analizado mediante métodos aprobados y ha resultado negativo para HbsAg, hepatitis C y VIH. Sin embargo, en el caso de material de origen humano, no se puede garantizar la ausencia completa de virus. Por consiguiente, los controles del kit y las muestras de pacientes deben considerarse potencialmente infecciosos y deben manipularse de acuerdo con los requisitos nacionales.

El kit contiene material de origen animal (BSA, Inmunoglobulina) como se indica en la tabla de contenidos, proceda de acuerdo con la normativa de su país.

d. Instrucciones generales

1. No pipetee con la boca. No fume, coma ni beba mientras trabaja con el kit.
2. No mezcle reactivos ni instrumental provenientes de diferentes números de lote. Esto puede conducir a alteraciones en los resultados de la prueba.
3. Mantenga todos los recipientes herméticamente cerrados después de usarlos, para evitar la contaminación bacteriana.
4. Siempre use puntas para pipeta estériles y nuevas para todos los componentes.
5. Nunca exponga los componentes a temperaturas superiores a 37°C / 98,6°F (excepto MMIFA).
6. Nunca deje secar los portaobjetos durante el procedimiento.
7. Nunca congele los portaobjetos.

 AESKU DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Referencia del producto	517.xxx & 518.xxx
	Nombre del producto	Rodent Tissues
	Manual número de rev.	018: 2024-10-01

Se aconseja que cada laboratorio establezca sus propios valores normales, de acuerdo con sus propias técnicas, controles, equipos y población de pacientes.

No puede hacerse un diagnóstico clínico definitivo sólo sobre la base de los resultados del análisis efectuado, sino que debe ser realizado por el médico después de evaluar todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.

Si los resultados del ensayo no se encuentran en el intervalo aceptable de los controles, el test no es válido y debe repetirse. Debe comprobar lo siguiente: fecha de caducidad de los reactivos (preparados), condiciones de conservación, pipetas y cualquier otro material utilizado, fotómetro, tiempos de incubación y métodos de lavado. Si tras comprobar los aspectos previos no ha detectado ningún error, le rogamos que contacte con el fabricante o su proveedor.

10. OBTENCIÓN, PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

Preparación de las muestras: Se recomienda usar muestras de suero recién obtenidas. La extracción de sangre debe hacerse observando los requisitos nacionales. Tome las muestras de sangre de forma aséptica.

No usar muestras lipémicas, ictéricas, hemolizadas o contaminadas con bacterias.

Se debe eliminar el material particulado del suero por centrifugación a baja velocidad (<1000 x g). Las muestras de sangre deben recogerse en tubos limpios, secos y vacíos. Después de la separación, las muestras de suero deben usarse directamente durante las primeras 8 horas, almacenarse bien cerradas entre 2 y 8°C (entre 35 y 46°F) por un máximo de 48 horas o congelarse a -20°C (-4°F) para conservarlas durante periodos más prolongados. Evite los ciclos repetidos de congelación y descongelación.

11. PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

e. Preparación

Deje que todos los componentes lleguen a temperatura ambiente (20-26°C / 68-78,8°F) antes de usarlos, mézclelos bien y siga el esquema de incubación recomendado para obtener un rendimiento óptimo de la prueba.

1. Preparación de la solución de tampón para lavado: diluya la solución de tampón concentrada a 1:10 con agua destilada.
2. Dilución de las muestras: diluya el suero del paciente (para ver el título de tamizaje, consulte la sección **Procedimiento con el kit** anterior, de acuerdo con la referencia de producto que esté utilizando) con 1 solución de tampón para muestra. Varían entre los kits de HEp-2, ADNn, rLKS, EMA, etc.
3. Los controles están listos para usarse.
4. Preparación de un protocolo: las hojas de interpretación de datos están disponibles en la sección **Procedimiento con el kit** de acuerdo con la referencia del producto que esté utilizando.
5. En caso de aumento de la viscosidad o la opacidad, el reactivo de medio de montaje (MMIFA) debe calentarse en un baño de agua durante 15 minutos a 56 °C / 132,8 ° F y después debe dejarse que alcance la temperatura ambiente (20-26 °C / 68-78,8 °F) Tras este procedimiento, el reactivo calentado se puede utilizar hasta 21 días consecutivos, suponiendo que se almacene a entre 2-8 °C / 35,6-46,4 °F, como se indica en la etiqueta del reactivo y en las instrucciones de uso.

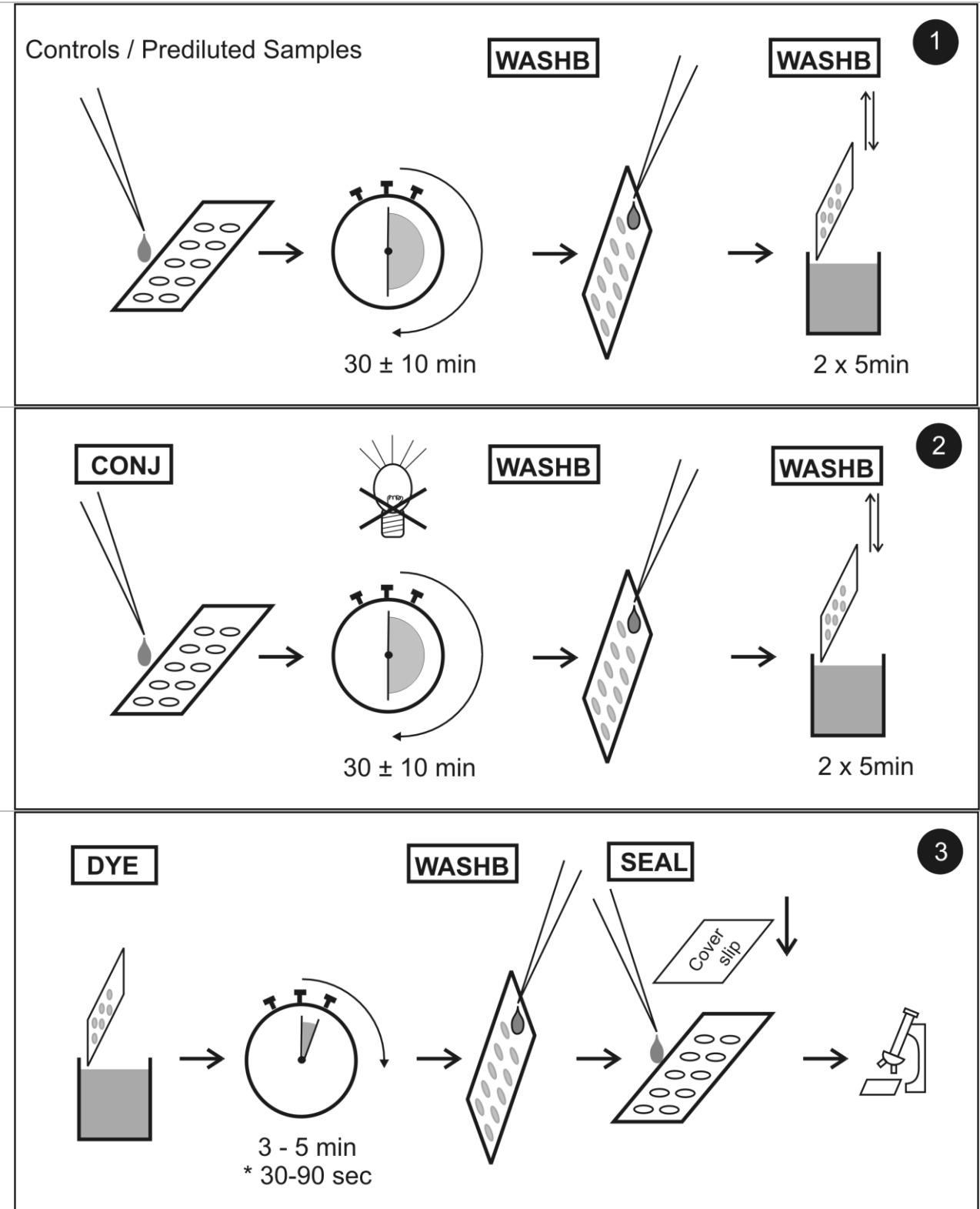
 AESKU DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Referencia del producto	517.xxx & 518.xxx
	Nombre del producto	Rodent Tissues
	Manual número de rev.	018: 2024-10-01

f. Procedimiento de la prueba

N.º	Descripción del paso
1.	Extraiga los portaobjetos necesarios de sus envases y rotúlelos. No toque la capa de tejidos o células. Nunca deje secar los portaobjetos.
2.	<p>Preparación de la bandeja de la incubadora: Coloque una pequeña cantidad de agua desionizada o destilada en una cámara de incubación y coloque las láminas sobre los soportes adecuados dentro de ésta. Incube la lamina (s) 30 ± 10 minutos a temperatura ambiente en la cámara de incubación húmeda. Utilice tiempos de incubación consistentes con el conjugado.</p> <p>Primera incubación: Pipetee un volumen adecuado de cada suero diluido y controles (listos para usarse) en los pocillos adecuados. Evite el contacto directo de la pipeta con la superficie del portaobjetos.</p> <p>Asegúrese de que cada área de prueba quede cubierta por completo con el suero o el control correspondientes. Es importante usar la cantidad de material a probar suficiente para cubrir por completo cada pocillo. Pero debe evitarse que se mezclen entre ellos, ya que esto puede producir resultados incorrectos.</p>
3.	<p>Lavado: Después de la incubación, remueva las láminas de la cámara de incubación y lávelas brevemente con tampón de lavado usando un frasco lavador. No aplique directamente el chorro del tampón sobre los pozos</p> <p>NOTA: Para evitar contaminación cruzada, incline levemente la lámina primero hacia una fila y lave cuidadosamente con el chorro de tampón de lavado a lo largo de la línea media de la lámina, esto permite que el tampón de lavado salga fuera del borde inferior de la lámina. Luego incline la lámina hacia la otra fila, y repita este procedimiento con el tampón de lavado. Lave la lámina (s) 10 minutos con tampón de lavado en un plato de tinción de portaobjetos. Evite el contacto directo de los elementos sólidos con el sustrato. Para obtener resultados óptimos cambie la solución de tampón de lavado una vez, después de 5 minutos de incubación.</p> <p>Levante la lámina (s) del plato tinción y retire con cuidado el exceso de tampón de lavado.</p> <p>NOTA: Es importante que los pocillos del portaobjetos no se sequen durante el procedimiento, ya que eso puede provocar daños en el sustrato. Por favor, no seque el portaobjetos con papel absorbente ni de cualquier otra manera, no permita que la lámina quede sin reactivo de anticuerpos fluorescentes durante más de unos pocos segundos.</p>
4.	<p>Segunda incubación: Después del lavado, coloque los portaobjetos de inmediato en la cámara húmeda y cubra todas las zonas de prueba con una cantidad suficiente del conjugado marcado con FITC, de tal forma que la zona de prueba esté totalmente cubierta.</p> <p>Incube la lamina (s) 30 ± 10 minutos a temperatura ambiente en oscuridad.</p>
5.	<p>Lavado: Después de la incubación, remueva las láminas de la cámara de incubación y lávelas brevemente con tampón de lavado usando el frasco lavador. No aplique directamente el chorro del tampón sobre los pozos. Lave la lámina (s) 10 minutos con tampón de lavado en un plato de tinción de portaobjetos. Evite el contacto directo de los elementos sólidos con el sustrato. Para obtener resultados óptimos cambie la solución de tampón de lavado una vez después de 5 minutos de incubación.</p>
6.	<p>*Tinción de contraste optativa: Diluya el colorante de contraste (azul de Evans) 1:3000 en tampón para lavado y mezcle bien. Vierta el colorante de contraste en un plato de tinciones e incube en él los portaobjetos. Consulte la sección Procedimiento con el kit anterior con la referencia del producto que esté usando para obtener detalles sobre el tiempo de incubación. El azul de Evans oculta la fluorescencia inespecífica de fondo.</p> <p>Retire los portaobjetos una vez transcurrido el tiempo de incubación y enjuáguelos brevemente con tampón de lavado. Elimine cuidadosamente el exceso de tampón de lavado. No seque los portaobjetos con papel absorbente; asimismo, nunca deben someterse a este tipo de secado.</p>
7.	<p>Montaje: Coloque un volumen adecuado de medio de montaje (Mounting Medium) a lo largo de la línea media del portaobjetos. Coloque cuidadosamente un cubreobjetos sobre el medio de montaje, evitando formar burbujas de aire.</p>
8.	<p>Observación microscópica: Lea los portaobjetos de inmediato con un aumento total de 400 a 800 x en un microscopio de fluorescencia (filtro excitador de 490 nm, filtro barrera de 510 nm).</p>



g. Flujo de trabajo



 AESKU DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Referencia del producto	517.xxx & 518.xxx
	Nombre del producto	Rodent Tissues
	Manual número de rev.	018: 2024-10-01

12. SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

ERROR	CAUSAS POSIBLES	SOLUCIÓN
Baja densidad celular	<ul style="list-style-type: none"> Lisis celular por contacto prolongado con agua desionizada. Tampón vertido directamente sobre las células 	Observe el procedimiento de lavado
	Enzimas proteolíticas han atacado al sustrato	Inactive el suero
Fluorescencia irregular	El suero se ha secado en el pocillo, fluorescencia más intensa en los bordes	Incubar siempre en un medio ambiente húmedo
	El suero no cubrió el área de prueba	Coloque un volumen adecuado de material a probar
	Reacción cruzada entre áreas de prueba	Evite que se mezcle el contenido de las áreas de prueba durante la primera incubación Use un lápiz de grafito
	El rotulado del portaobjetos con un lápiz de cera produjo una película sobre el portaobjetos	Use un lápiz de grafito
	Microscopio regulado de forma incorrecta	Verifique la vida útil de la lámpara UV
Imagen difusa	Los portaobjetos se almacenaron en el refrigerador sin taparlos	Selle el portaobjetos con laca de uñas o cera de parafina
	El microscopio de fluorescencia está sucio. Posiblemente las lentes están rayadas	Limpie el microscopio de acuerdo con sus instrucciones de mantenimiento
Poca fluorescencia o ninguna	Conjugado y portaobjetos descongelados y vueltos a congelar	Almacenar el conjugado y los portaobjetos entre 2-8 °C / 35,6-46,4 °F.
	Controles diluidos	Lea las instrucciones, use los controles listos para usar del kit
	<ul style="list-style-type: none"> Contaminación bacteriana de los sueros o del conjugado Microscopio no regulado pH del tampón de lavado demasiado bajo (pH 7,4 ± 0,2) 	Verifique las condiciones de la prueba
	El conjugado FITC se ha expuesto a la luz	Almacene el conjugado protegido de la luz
Fluorescencia de fondo	<ul style="list-style-type: none"> Lavado incorrecto El portaobjetos se ha secado Sueros lipémicos o hemolizados Error del microscopio 	<ul style="list-style-type: none"> Revise las instrucciones de lavado No deje que los portaobjetos se sequen Use sólo sueros recién obtenidos Verifique que el filtro y el objetivo sean los correctos



13. ΣÍΜΒΟΛΟΣ ΡΕΓΛΑΜΕΝΤΑΡΙΟΣ

	- 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	
	- Numero d'ordine	- Catalogue number
	- Référence Catalogue	- Numéro de catálogo
	- Katalognummer	- Αριθμός παραγγελίας
	- Número de catálogo	
	- Descrizione lotto	- Lot
	- Lot	- Lote
	- Chargen Bezeichnung	- Χαρακτηρισμός παρτίδας
	- Lote	
	- 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 instruções de uso	
	- Da utilizzarsi entro	- Use by
	- Utiliser 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	
	- Colorante Blue-Evans	- Evans-Blue Dye
	- coloration au Bleu Evans	- Colorante Azul de Evans
	- Evans-Blue Färbelösung	- Evans Blue
	- Evans Blue	
	- Controllo positivo	- Positive Control
	- Contrôle Positif	- Control Positivo
	- Positiv Kontrolle	- Θετικός ορός ελέγχου
	- Controllo positivo	
	- Controllo negativo	- Negative Control
	- Contrôle Négatif	- Control Negativo
	- Negativ Kontrolle	- Αρνητικός ορός ελέγχου
	- Controllo negativo	
	- Mezzi di montaggio	- Mounting media
	- milieu de montage	- Medio de montaje
	- Mounting Medium	- Μέσο μονιμοποίησης
	- Meio de montagem	
	- Coniugato	- Conjugate
	- Conjugé	- Conjugado
	- Konjugat	- Σύζευγμα
	- Conjugado	
	- Vetrino per microscopio	- Microscope slide
	- lame de microscope	- Portaobjetos
	- Objektträger	- Αντικειμενοφόρο πλακίδιο
	- Lâmina	
	- Tamponi di lavaggio	- Wash Buffer
	- Tampon de Lavage	- Solución de lavado
	- Waschpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	- Solução de lavagem	
	- Tamponi di campione	- Sample Buffer
	- Tampon de Echantillons	- Solución de muestras
	- Probenpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	- Solução para amostras	
	- Numero di determinazioni	- Number of determinations
	- Nombre de déterminations	- Número de determinaciones
	- Anzahl der Prüfungen	- Αριθμός προσδιορισμών
	- Número de determinações	