



AESKU.DIAGNOSTICS

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKUSLIDES®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

AESKUSLIDES® Rodent Tissues

Ref 517.xxx & 518.xxx

AESKUSLIDES®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Rodent Tissues (ratazana/rato LKS)

Ref. Padrão	Descrição	Testes
517.050	rLKS - ratazana, envolvido (5 poços)	50
517.101	rLKS - ratazana, envolvido (10 poços)	100
517.051	rLKS - ratazana, separado (5 poços)	50
517.100	rLKS - ratazana, separado (10 poços)	100
518.050	mLKS - rato, separado (5 poços)	50
518.100	mLKS - rato, separado (10 poços)	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



Ref. do produto	517.xxx & 518.xxx
Desc. do produto	Rodent Tissues
N.º Rev. do Manual	018: 2024-10-01

Índice de conteúdo

1.	FIM DE UTILIZAÇÃO	1
2.	APLICAÇÃO CLÍNICA	1
3.	PROCEDIMENTO DO KIT	2
4.	INTERPRETAÇÃO	2
5.	FICHA DE INTERPRETAÇÃO DE DADOS	4
6.	CONTEÚDO DE KITS PADRÃO	5
6.1.	Kits Padrão	5
7.	CONTEÚDO DE REAGENTES COMUNS	6
a.	Reagentes Comuns	6
b.	Materiais requeridos mas não fornecidos	6
8.	ARMAZENAMENTO E VALIDADE	7
9.	AVISOS E MEDIDAS DE PRECAUÇÃO	7
c.	Risco para a saúde	7
d.	Avisos gerais	7
10.	TOMADA DE AMOSTRAS, PREPARAÇÃO E ARMAZENAMENTO	8
11.	PROCEDIMENTO DO TESTE	8
e.	Preparação	8
f.	Realização do teste	9
g.	Fluxo de trabalho	10
12.	RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS	11
13.	SÍMBOLOS REGULAMENTARES	12



Ref. do produto	517.xxx & 518.xxx
Desc. do produto	Rodent Tissues
N.º Rev. do Manual	018: 2024-10-01

Rodent Tissues (ratazana/rato LKS)

1. FIM DE UTILIZAÇÃO

As referências **AESKUSLIDES**[®] acima são ensaios indirectos de imunofluorescência para detectar auto-anticorpos contra, por exemplo, mitocôndrias (AMA), músculo liso (ASMA), microssomas de fígado e rim (LKM) ou células parietais circulantes (APCA) em soro humano.

2. APLICAÇÃO CLÍNICA

Doenças auto-imunes são provocadas por perturbações das reacções imunológicas de tipo celular e/ou humoral. Estas reacções, que decorrem normalmente contra influências externas, podem, sob certas circunstâncias, dirigir-se contra o próprio corpo e assim causar várias doenças.

ANA A presença de anticorpos antinucleares pode ser comprovada em cada secção de tecido preparada mediante fluorescência nuclear. Além disso, não se recomenda utilização de despistagem de padrões ANA visto que as células HEp-2 são muito mais sensíveis e permitem o reconhecimento de diferentes tipos de padrões.

AMA Anticorpos antimitocondriais (AMA) reagem sobretudo com a membrana interior rica em fosfolípidos das mitocôndrias. AMA surgem predominantemente em doenças como a cirrose biliar primária, o síndrome pseudo-LE e diversas formas de hepatite crónica agressiva. A constatação de AMA com títulos elevados encontram-se predominantemente em infecções biliares não purulentas ou na cirrose biliar primária (resultados positivos em aproximadamente 90%).


Aqui os anticorpos surgem já antes da sua manifestação clínica, sendo também pouco influenciados por uma terapia da progressão da doença.

Anticorpos de títulos baixos são observados na esclerodermia, no síndrome de Sjögren, na artrite reumatóide e noutras doenças auto-imunes.

ASMA Anticorpos contra musculatura lisa surgem em várias doenças hepáticas, por exemplo em hepatites agudas e crónicas, na cirrose biliar primária e ainda noutras formas de cirrose do fígado. Além disso a comprovação de ASMA serve para o diagnóstico de LES, mononucleose infecciosa, carcinomas mamários e ovários e melanomas malignos.

LKM: Anticorpos que se unem ao citocromo p450 e estão frequentemente associados à hepatite auto-imune do tipo 2 que ocorre predominantemente num subgrupo de raparigas e mulheres jovens (80% de prevalência). Também podem estar associados à hepatite C.

APCA Anticorpos circulantes contra estruturas das células parietais da mucosa estomacal podem ser em regra geral atribuídos a uma anemia perniciosa. Contudo podem surgir também noutras doenças, p.ex. do estômago (gastrite atrofica crónica, úlcera estomacal), da tiróide (tiroidite de Hashimoto, mixedema), mais raramente em caso de anemia por carência de ferro, diabetes mellitus e em pessoas idosas.

 AESKU DIAGNOSTICS <small>THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS</small>	Ref. do produto	517.xxx & 518.xxx
	Desc. do produto	Rodent Tissues
	N.º Rev. do Manual	018: 2024-10-01

Substrato de Caracterização do Antígeno: fígado, rim, estômago de ratazana ou rato/rim, estômago de ratazana ou rato

Reacções cruzadas: não são conhecidas.

O teste baseia-se no princípio da imunofluorescência indirecta:

Lâminas estão revestidas com secções de tecido ou células (HEp2 para determinação de ANA, granulócitos para determinação de ANCA ou *Crithidia lucilliae* para determinação de anticorpos de anti-nDNA). Se um soro de doente conter anticorpos contra componentes dos tecidos ou das células, estes ligam-se numa primeira etapa de incubação ao substrato correspondente na lâmina. Partes do soro não ligadas são eliminadas numa etapa de lavagem. Os anticorpos ligados do doente são comprovados numa segunda etapa por imunoglobulinas antihumanas marcadas por fluoresceína, que se ligam aos anticorpos do doente, tornando-os visíveis pelo seu corante fluorescente. Disto resulta uma fluorescência específica verde dos complexos antígeno-anticorpos, que se tornam visíveis sob um microscópio de imunofluorescência.

3. PROCEDIMENTO DO KIT

Consulte o Procedimento do Teste indicado no Manual Comum, Secção 11, para obter instruções pormenorizadas. Utilizar-se-ão os pormenores seguintes nos kits de Tecidos de Roedores:

- Contador de tempo de coloração: 3-5 minutos
- Título de despistagem recomendado: 1:20

4. INTERPRETAÇÃO


R ou M-LKS/R ou M-KS: A secção de tecido combinada permite a diferenciação de vários anticorpos dentro de uma área de teste e pode assim ser aplicada como um teste de diagnóstico para os anticorpos auto-ímmunes seguintes. (No caso de diversos anticorpos é aconselhável procurar uma identificação de diagnóstico adicional). A avaliação deve ser sempre executada com os controlos positivos e negativos.

ANA: Pode detectar-se a presença de anticorpos antinucleares em todo o tecido fornecido através de fluorescência nuclear positiva.

AMA: A presença de anticorpos antimitocôndrias exhibe uma fluorescência citoplasmática granular fina dos túbulos renais. Os túbulos distais são mais ricos em mitocôndrias e, portanto, exibem uma fluorescência mais intensa em contraste com os túbulos proximais.

ASMA: A presença de ASMA é indicada por uma fluorescência das fibras do músculo liso dos vasos sanguíneos do rim e do estômago, da mucosa muscular, da túnica muscular do estômago, bem como da fibrila contráctil interglandular da mucosa do estômago.

APCA: A fluorescência granular fina das células parietais na membrana mucosa gástrica indica APCA. Visto que a AMA também reage com células parietais, os anticorpos antimitocôndrias (túbulos renais) deveriam ser excluídos na avaliação de APCA.

 AESKU DIAGNOSTICS <small>THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS</small>	Ref. do produto	517.xxx & 518.xxx
	Desc. do produto	Rodent Tissues
	N.º Rev. do Manual	018: 2024-10-01

LKM: Observa-se uma coloração específica no citoplasma dos túbulos renais proximais mas não nos distais. O fígado apresenta coloração homogénea dos hepatócitos e não se observa nenhuma coloração no estômago.

AMA:

- 1:20-1:80 (por ex. 10 µl de soro + 790 µl de tampão da amostra) - verifica-se uma reacção positiva em várias doenças hepáticas.
- >1:160 (por ex. 10 µl de soro + 1590 µl de tampão da amostra) - indica cirrose biliar. Os títulos de AMA permanecem constantes durante um longo período de tempo, e apesar da terapia, de forma que a determinação do título como uma medida de controlo de terapia não é útil.

ASMA:

- 1:20-1:80 (por ex. 10 µl de soro + 790 µl de tampão da amostra) - verifica-se uma reacção positiva em várias doenças hepáticas, hepatite viral e cirrose biliar primária. Porém, os títulos aqui podem descer abaixo do limiar de determinação. Podem observar-se títulos baixos em doentes com infecções da vesícula, cirrose alcoólica, LES e em 2% da população normal, saudável.
- >1:160 (por ex. 10 µl de soro + 1590 µl de tampão da amostra) - é indicada hepatite crónica activa. Em contraste com a hepatite viral, os títulos diminuem apenas ligeiramente e podem persistir durante vários anos. Os doentes com mononucleose infecciosa também podem apresentar títulos elevados de ASMA.

APCA: O título de APCA não fornece qualquer informação sobre o estado do doente. A determinação de anticorpos deveria ser avaliada em conjunto com a medição do factor intrínseco e/ou os resultados de histopatologia.

O respectivo título final é aquela diluição de um soro de doente em que este apresenta ainda uma fluorescência positiva. As fluorescências fracas a títulos entre 1:20 e 1:40 ou a falta de clareza em relação aos resultados clínicos devem ser controladas com base no controlo de monitorização. Num tal caso, as amostras dos doentes deverão ser recolhidas a cada 3 semanas e ser medidas por meio de um procedimento similar.¹

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



Ref. do produto	517.xxx & 518.xxx
Desc. do produto	Rodent Tissues
N.º Rev. do Manual	018: 2024-10-01

5. FICHA DE INTERPRETAÇÃO DE DADOS

LKS

Data:	Lote:
Lâmina n.º:	Operador:

Poço N.º	ID	Factor de diluição	F.I.	Fígado	Rim		Estômago		Núcleo	Anticorpos	Observações
					Túbulos	Glomérulos	Células Parietais	Músculo liso			
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11											
12											
13											
14											
15											
16											
17											
18											




Ref. do produto	517.xxx & 518.xxx
Desc. do produto	Rodent Tissues
N.º Rev. do Manual	018: 2024-10-01

6. CONTEÚDO DE KITS PADRÃO

6.1. Kits Padrão

Ref. do kit	Descrição do kit	LÂMINAS				CONJUGADO			CONTROLO POSITIVO		
		Ref.	Poços	Revestido com	Quantidade	Ref.	Descrição	Quantidade	Ref.	Descrição	Quantidade
517.050	rLKS envol. 5 poços	S517.050	5	Tecidos de ratazana LKS (L/K envolvido no estômago)	10 x	CDTIFA	IgG Revestimento azul: solução ligeiramente colorida a azul. Contém: BSA, Fluoresceína (FITC)- anticorpo marcado anti-humano	1 x 3,5 ml	PCDTIFA	Controlo positivo de AMA. Revestimento vermelho: solução incolor. Contém: soro humano (diluído), azido de sódio < 0,1 % (conservante)	1 x 0,5 ml
517.101	rLKS envol. 10 poços	S517.101	10	Tecidos LKS de ratazana (L/K envolvido no estômago)	10 x			2 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml
517.051	rLKS sep. 5 poços	S517.051	5	Tecidos LKS de ratazana (secções LKS separadas)	10 x			1 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml
517.100	rLKS sep. 10 poços	S517.100	10	Tecidos LKS de ratazana (secções LKS separadas)	10 x			2 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml
518.050	mLKS sep. 5 poços	S518.050	5	Tecidos LKS de rato (secções LKS separadas)	10 x			1 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml
518.100	mLKS sep. 10 poços	S518.100	10	Tecidos LKS de rato (secções LKS separadas)	10 x			2 x 3,5 ml			1 x 0,5 ml

NOTA: O conteúdo dos restantes componentes dos kits, ou seja, reagentes comuns (Ctrl. Neg., Meio de Montagem, etc.), está descrito abaixo na secção 7 CONTEÚDO DE REAGENTES COMUNS.

 AESKU DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Ref. do produto	517.xxx & 518.xxx
	Desc. do produto	Rodent Tissues
	N.º Rev. do Manual	018: 2024-10-01

7. CONTEÚDO DE REAGENTES COMUNS

a. Reagentes Comuns

Ref.	Reagente	Quantidade / volume		Descrição	Pronto a usar
NCIFA	Controlo Negativo	1 x	0,5 ml	Revestimento verde: solução incolor. Contém: soro humano (diluído), azido de sódio < 0,1 % (conservante)	SIM
* EBIFA	Evans Blue 0,2 %	1 x	1,5 ml	Revestimento branco: solução colorida a azul Contém: PBS, Evans Blue. Dilua Evans Blue 0,2 % na relação 1:3000 em 1x WBIFA	NÃO
** MMIFA	Meio de Montagem	1 x	8 ml	Validado para utilizar com HELMED® Revestimento branco: solução incolor. Contém: PBS, glicerina.	SIM
*** MMIFA. Bulk		1 x	12 ml		
WBIFA	Tampão de lavagem (10 x)	1 x	100 ml	Revestimento branco: solução incolor. Dilua o tampão concentrado na relação 1:10 em água destilada (por ex.: 100 ml + 900 ml). Contém: PBS, azido de sódio (conservante).	NÃO
SBIFA	Tampão de Amostra	1 x	70 ml	Revestimento branco: solução incolor. para a diluição dos soros de doentes Contém: BSA, PBS, azido de sódio (conservante).	SIM


As quantidades por kit são. (*) devem ser pedidos separadamente.

(**) para 517.050, 517.051 e 518.050; (***) para 517.101, 517.100 e 518.100

b. Materiais requeridos mas não fornecidos

1. Água destilada
2. Tubos de ensaio para diluição de amostra
3. Frasco graduado
4. Pipeta volumétrica
5. Temporizador
6. Microscópio de fluorescência com sistema FITC, (filtro de excitação de 490 nm, filtro de barreira de 510 nm)
7. Câmara de incubação
8. Cubeta
9. Seringas
10. Lamela (24 x 60 mm)
11. Espremer lavar garrafa

Caso as informações sobre o produto, incluindo a rotulagem, contenham erros ou estejam incorrectas, contacte o fabricante ou o fornecedor do kit de teste.

 AESKU DIAGNOSTICS <small>THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS</small>	Ref. do produto	517.xxx & 518.xxx
	Desc. do produto	Rodent Tissues
	N.º Rev. do Manual	018: 2024-10-01

8. ARMAZENAMENTO E VALIDADE

Guarde todos os reagentes a 2-8 °C / 35,6-46,4 °F, protegidos de luz intensa. O prazo de validade de cada componente está indicado no respectivo rótulo. Não utilize reagentes após o prazo de validade.

Todos os reagentes e as lâminas devem ser guardados nas suas embalagens originais a 2-8 °C / 35,6-46,4 °F. Depois de preparadas, as soluções reconstituídas são estáveis durante pelo menos 1 semana a 2-8 °C / 35,6-46,4 °F. **Os reagentes e as lâminas devem ser utilizados apenas dentro do prazo de validade indicado em cada componente.**

9. AVISOS E MEDIDAS DE PRECAUÇÃO

c. Risco para a saúde

ESTE PRODUTO DEVE SER EXCLUSIVAMENTE USADO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO. A aplicação tem de ser realizada por pessoal que tenha sido especialmente instruído e formado no uso de métodos de diagnóstico in vitro. Embora os reagentes contidos neste produto não sejam considerados particularmente tóxicos ou perigosos ao serem usados conforme as especificações, deve ser cumprido o seguinte para assegurar a máxima segurança do utente:

Recomendações e medidas de precaução


Este kit contém componentes potencialmente perigosos. Embora estes reagentes do kit não sejam classificados como irritantes para os olhos e a pele, recomendamos que se evite o contacto com os olhos e a pele e que se use luvas descartáveis.

Todo o material de origem humana usado para alguns reagentes deste kit (por exemplo, controlos) foi testado por métodos aprovados e revelaram-se negativos para HBsAg, Hepatite C e VIH. Contudo, nenhum teste pode excluir com certeza definitiva a existência de agentes virais nesse material. Por isso, os controlos do kit e as amostras dos doentes devem ser considerados transmissores potenciais de doenças e manuseados segundo as prescrições legais nacionais.

O kit contém material de origem animal (BSA, Imunoglobulina) como mencionado na descrição do conteúdo, utilizar de acordo com as recomendações nacionais.

d. Avisos gerais

1. Nunca se deve pipetar com a boca. Ao trabalhar com o kit não se deve comer, nem beber, nem fumar.
2. Componentes individuais de diferentes cargas e estojos de teste não devem ser trocados, já que isso pode levar a adulteração dos resultados da medição.
3. Depois do seu emprego, voltar a fechar bem os frascos, para evitar contaminações bacterianas.
4. Pipetar todos os componentes sempre com seringas novas e estéreis.
5. Nunca exponha os diferentes componentes do kit a temperaturas superiores a 37°C / 98,6°F (exceto MMIFA).
6. Nunca deixe as lâminas secar durante o procedimento do teste.
7. Nunca congele as lâminas!

 AESKU DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Ref. do produto	517.xxx & 518.xxx
	Desc. do produto	Rodent Tissues
	N.º Rev. do Manual	018: 2024-10-01

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores normais, com base nas suas próprias técnicas, controlos, equipamento e população de doentes.

Um diagnóstico clínico definitivo não se deve basear somente nos resultados do teste realizado, mas deve ser elaborado pelo médico, tendo em conta todos os resultados clínicos e de laboratório.

Se os resultados da análise não estiverem em conformidade com os limites aceitáveis do material de controlo, o teste é considerado inválido, tendo que ser repetido. Verifique os seguintes pontos: Prazo de validade dos reagentes (preparados), condições de armazenamento, pipetas e outro material para execução, fotómetro, prazos de incubação e método de lavagem.

Se após ter verificado estes pontos não tiver detectado qualquer erro, favor entrar em contacto com o fabricante ou o fornecedor do kit de teste.

10. TOMADA DE AMOSTRAS, PREPARAÇÃO E ARMAZENAMENTO

Recomenda-se a utilização de amostras de soro colhidas na altura. A extracção de sangue deve seguir as prescrições legais nacionais. Efectue as colheitas de sangue de forma asséptica.

Não utilize amostras de soro lipémicas, ictéricas, hemolizadas ou contaminadas por bactérias.

Os soros com partículas devem ser limpos com centrifugação de baixa velocidade (<1000 x g). As amostras de sangue devem ser colhidas em tubos limpos, secos e vazios. Após a separação, as amostras de soro devem ser utilizadas nas primeiras 8 horas, guardadas num local bem fechado até 48 horas a 2-8 °C / 35,6-46,4 °F, ou, se for necessário um armazenamento mais prolongado, devem ser congeladas a -20 °C / -4 °F. Evite congelar e descongelar várias vezes.

11. PROCEDIMENTO DO TESTE

e. Preparação

Todos os componentes devem estar à temperatura ambiente (20–26 °C / 68–78,8 °F) antes do seu uso e ser bem agitados. Cumpra os tempos de incubação recomendados para obter um óptimo resultado do teste.

1. Preparação da tampão de lavagem: dilua o tampão concentrado na relação 1:10 em água destilada.
2. Diluição de amostras: dilua soro de doente (relativamente a título de despistagem consulte a secção **Procedimento do Kit** acima de acordo com a referência do produto que está a utilizar) com 1 x tampão da amostra. Estas variam entre kits HEp-2, nDNA, rLKS, EMA, etc.
3. Os controlos estão prontos a usar.
4. Preparar um protocolo: as fichas de interpretação de dados estão disponíveis na secção **Procedimento do Kit** acima de acordo com a referência do produto que está a utilizar.
5. Em caso de aumento da viscosidade e/ou opacidade, deve aquecer-se o reagente do Meio de Montagem (MMIFA) em banho-maria durante 15 minutos a 56 °C / 132,8 °F e depois deve deixar-se atingir a temperatura ambiente (20–26 °C / 68–78,8 °F) antes de utilizar-se. Após este procedimento, o reagente aquecido pode ser utilizado até 21 dias consecutivos, desde que seja armazenado entre 2-8 °C / 35,6-46,4 °F, conforme indicado no rótulo do reagente e nas instruções de utilização.



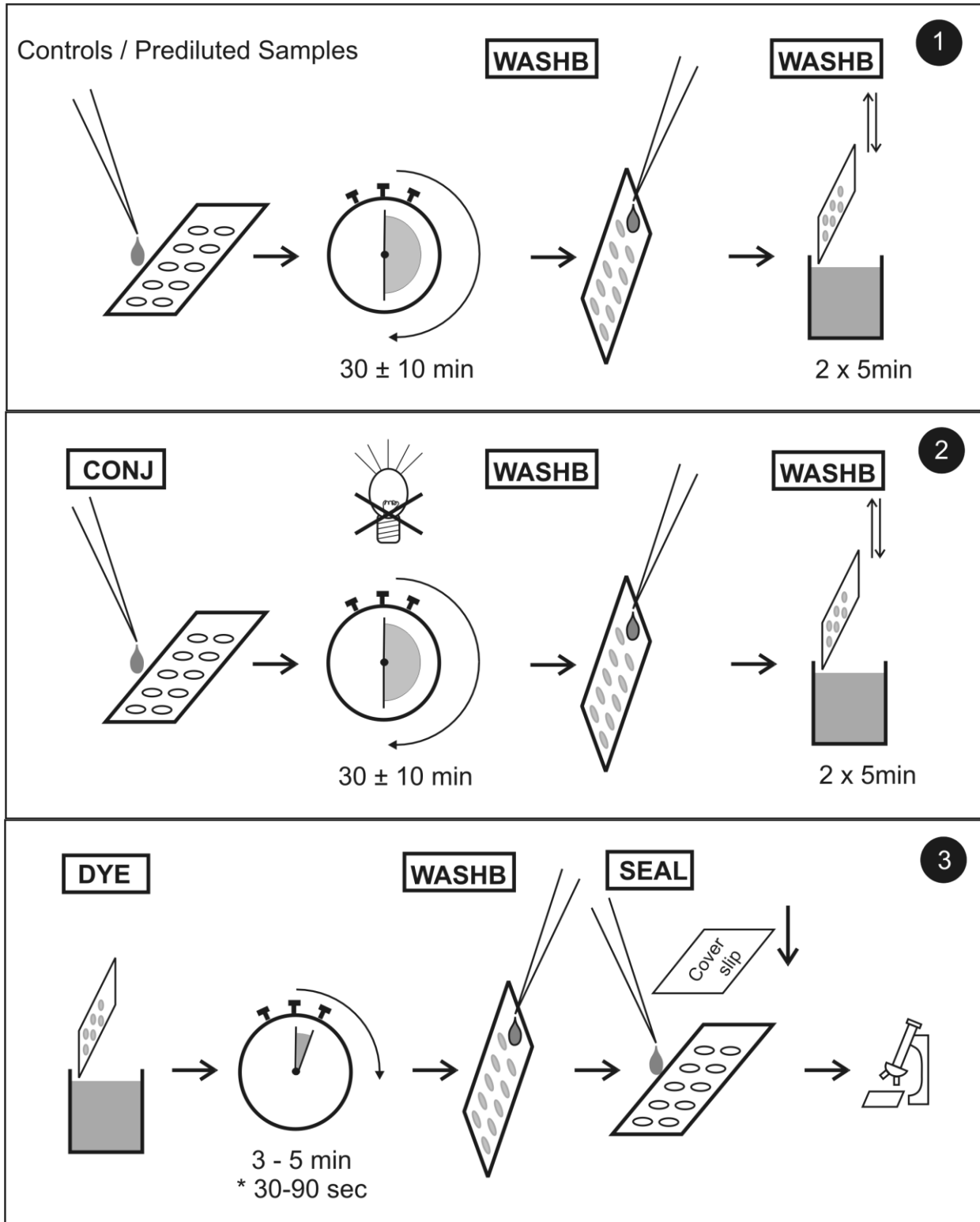
Ref. do produto	517.xxx & 518.xxx
Desc. do produto	Rodent Tissues
N.º Rev. do Manual	018: 2024-10-01

f. Realização do teste

N.º	Descrição do passo
1.	Retire a lâmina necessária para o teste da embalagem protectora, marcando-a. Evite o contacto com tecidos ou células revestidas. Nunca deixe secar a lâmina.
2.	<p>Preparação de Câmara de incubação: Colocar uma pequena quantidade de água destilada numa câmara húmida e coloque a(s) lâmina(s) num suporte da câmara.</p> <p>Incubar a(s) lâmina(s) 30 ± 10 minutos numa câmara húmida, à temperatura ambiente. Utilizar tempos de incubação consistentes para o conjugado.</p> <p>Primeira incubação: Pipete um volume adequado de cada soro e dos controlos diluídos (prontos a usar) nos poços adequados; evite o contacto directo da pipeta com a superfície da lâmina.</p> <p>Evite um contacto directo da ponta da pipeta com a superfície da lâmina. Assegure-se de que cada poço de teste esteja coberto por completo com o soro correspondente, respectivamente com o controlo. Para esse efeito é importante usar tanto material de teste quanto seja necessário, contudo devendo evitar-se uma mesclagem das diferentes amostras de soro, porque isso pode levar a resultados errados.</p>
3.	<p>Lavagem: Após a incubação, retire as lâminas da câmara húmida e enxague-as brevemente com tampão de lavagem utilizando uma pipeta. Não incida o tampão de lavagem directamente nos poços.</p> <p>NOTA: Para evitar contaminação cruzada, incline a lamina para um dos lados e faça incidir cuidadosamente o tampão de lavagem ao longo da linha central da lâmina permitindo que o tampão de lavagem possa escorrer para fora da lâmina. De seguida, incline a lâmina para o outro lado e repita este mesmo procedimento. Lave as lâminas numa câmara de lavagem durante 10 minutos, com tampão de lavagem. Evitar o contacto directo com o substrato. Para obtenção de óptimos resultados é necessário mudar uma vez o tampão de lavagem, após 5 minutos.</p> <p>Retire a(s) lâmina(s) da câmara de lavagem e remova cuidadosamente o excesso de tampão de lavagem.</p> <p>NOTA: É importante que os poços da lâmina não sequem durante o procedimento, uma vez que poderá causar danos no substrato. É favor não secar a(s) lâmina(s) de nenhum modo, nem deixe que a lâmina e sem conjugado fluorescente durante mais do que alguns segundos.</p>
4.	<p>Segunda incubação: Depois da lavagem coloque a lâmina imediatamente na câmara húmida e cubra cada poço de teste com 30 µl do conjugado marcado com FITC pronto para usar.</p> <p>Incubar a(s) lâmina(s) 30 ± 10 minutos no escuro, à temperatura ambiente.</p>
5.	<p>Lavar: Após a incubação, retire as lâminas da câmara húmida e enxague-as brevemente com tampão de lavagem utilizando uma pipeta. Não incida o tampão de lavagem directamente nos poços. Lave a(s) lamina(s) numa câmara de lavagem durante 10 minutos, com tampão de lavagem. Para obtenção de óptimos resultados é necessário mudar uma vez o tampão de lavagem, após 5 minutos.</p>
6.	<p>*Contra-coloração opcional: Dilua o reagente de contra-coloração (Evans Blue) na relação 1:3000 em tampão de lavagem, misturando bem. Encha o Evans Blue numa cubeta de coloração e incube aí as lâminas. Para obter mais pormenores sobre o tempo de incubação, consulte a secção do Procedimento do Kit acima de acordo com a referência do produto que está a utilizar. Evans Blue suprime uma fluorescência de fundo não específica.</p> <p>Retire a lâmina após o tempo de incubação, lavando-a brevemente em tampão de lavagem. Remova com cuidado o excedente residual de tampão de lavagem. É favor não colocar as lâminas sobre papel absorvente para blotting, da mesma forma estas também nunca devem ser sujeitas a uma secagem.</p>
7.	<p>Montar: Coloque uma quantidade suficiente de meio de montagem (Mounting Medium) ao longo da linha central sobre a lâmina. Deixe a lamela deslizar com cuidado sobre o meio de montagem, evitando ao mesmo tempo a formação de bolhas de ar.</p>
8.	<p>Microscope: as lâminas imediatamente com ampliação de 400 até 800 vezes com um microscópio de fluorescência (490 nm filtro de excitação, 510 nm filtro de barreira).</p>



g. Fluxo de trabalho





12. RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

ERRO	CAUSAS POSSÍVEIS	SOLUÇÃO
Densidade de células reduzida	<ul style="list-style-type: none">Rompimento da célula devido a contacto com água deionizadaTampão directamente injectado nas células	Cumpra as condições de lavagem indicadas
	Enzimas proteolíticas atacaram as células	Desactive o soro
Fluorescência irregular	Soro secou nos poços de teste, fluorescência mais intensa nas bordas	Incube sempre em ambiente húmido
	Soro não cobre o poço de teste	Utilize um volume suficiente de material de teste
	Reacções cruzadas entre os poços de teste	Evite um derrame das amostras entre os poços de teste durante a primeira incubação
	Rotulagem da lâmina com um giz de cera produz um filme	Utilize um lápis
	Microscópio mal ajustado	Verifique o ajuste Verifique a durabilidade a lâmpada UV
Imagem difusa	Lâmina guardada no frigorífico sem cobertura	Sele a lamela de vidro com verniz para unhas ou cera parafínica
	Microscópio de imunofluorescência sujo. Possíveis riscos na lente	Limpe o microscópio conforme as instruções de serviço
Pouca ou nenhuma fluorescência	Conjugado e lâmina foram congelados e novamente descongelados	Guarde conjugados e lâminas a 2-8 °C / 35,6-46,4 °F
	Controlos foram diluídos	Verifique a instrução, utilize os controlos prontos para usar do kit
	<ul style="list-style-type: none">Contaminação bacteriana dos soros ou conjugadosMicroscópio não ajustadoValor pH do tampão de lavagem demasiado baixo (valor pH 7,4 ± 0,2)	Verifique as condições
	Conjugado FITC exposto a luz	Guardar conjugado protegido de exposição a luz
Fluorescência de fundo	<ul style="list-style-type: none">Incorrectamente lavadoLâmina está secaSoros lipémicos, hemolíticosErro do microscópio	<ul style="list-style-type: none">Verifique as especificações de lavagemNunca deixe a lâmina secarUse soros frescosVerifique os filtros / a lente



Ref. do produto	517.xxx & 518.xxx
Desc. do produto	Rodent Tissues
N.º Rev. do Manual	018: 2024-10-01

13. ΣΥΜΒΟΛΟΣ ΡΕΓΥΛΑΜΕΝΤΑΡΕΣ

	- Diagnosi in vitro - Pour diagnostic in vitro - In-vitro-Diagnostikum - Para uso Diagnóstico in vitro	- For in vitro diagnostic use - Para uso diagnóstico in vitro - In Vitro Διαγνωστικό μέσο
	- Numero d'ordine - Référence Catalogue - Katalognummer - Número de catálogo	- Catalogue number - Numéro de catálogo - Αριθμός παραγγελίας
	- Descrizione lotto - Lot - Chargen Bezeichnung - Lote	- Lot - Lote - Χαρακτηρισμός παρτίδας
	- Conformità europea - Déclaration CE de Conformité - Europäische Konformität - Declaração CE de conformidade	- EC Declaration of Conformity - Declaración CE de Conformidad - Ευρωπαϊκή συμφωνία
	“ Rispettare le istruzioni per l'uso “ Voir les instructions d'utilisation “ Gebrauchsanweisung beachten “ Ver as instruções de uso	“ See instructions for use “ Ver las instrucciones de uso “ Λάβετε υπόψη τις οδηγίες χρήσης
	- Da utilizzarsi entro - Utilise avant le - Verwendbar bis - Utilizar antes de	- Use by - Utilizar antes de - Χρήση μέχρι
	- Conservare a 2-8°C (35.6-46.4°F) - Conserver à 2-8°C (35.6-46.4°F) - Lagerung bei 2-8°C (35.6-46.4°F) - Conservar entre 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Store at 2-8°C (35.6-46.4°F) - Conservar a 2-8°C (35.6-46.4°F) - Φυλάσσεται στους 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Prodotto da - Fabriqué par - Hergestellt von - Fabricado por	- Manufactured by - Fabricado por - Κατασκευάζεται από
	- Colorante Blue-Evans - coloration au Bleu Evans - Evans-Blue Färbelösung - Evans Blue	- Evans-Blue Dye - Colorante Azul de Evans - Evans Blue
	- Controllo positivo - Contrôle Positif - Positiv Kontrolle - Controllo positivo	- Positive Control - Control Positivo - Θετικός ορός ελέγχου
	- Controllo negativo - Contrôle Négatif - Negativ Kontrolle - Controllo negativo	- Negative Control - Control Negativo - Αρνητικός ορός ελέγχου
	- Mezzi di montaggio - milieu de montage - Mounting Medium - Meio de montagem	- Mounting media - Medio de montaje - Μέσο μονιμοποίησης
	- Coniugato - Conjugé - Konjugat - Conjugado	- Conjugate - Conjugado - Σύζευγμα
	- Vetrino per microscopio - lame de microscope - Objektträger - Lámina	- Microscope slide - Portaobjetos - Αντικειμενοφόρο πλακίδιο
	- Tamponi di lavaggio - Tampon de Lavage - Waschpuffer - Solução de lavagem	- Wash Buffer - Solución de lavado - Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	- Tamponi di campione - Tampon de Echantillons - Probenpuffer - Solução para amostras	- Sample Buffer - Solución de muestras - Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	- Numero di determinazioni - Nombre de déterminations - Anzahl der Prüfungen - Número de determinações	- Number of determinations - Número de determinaciones - Αριθμός προσδιορισμών