

AESKUSLIDES[®]
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

**INSTRUCTION
MANUAL**

GERMAN



AESKUSLIDES®
THE IFA PRODUCT LINE



Gebrauchsanweisung

Rodent Tissues (Ratte/Maus LKS)

Standard-Ref.	Beschreibung	Tests
517.050	rLKS - Ratte, umwickelt (5 Kavitäten)	50
517.101	rLKS - Ratte, umwickelt (10 Kavitäten)	100
517.051	rLKS - Ratte, separat (5 Kavitäten)	50
517.100	rLKS - Ratte, separat (10 Kavitäten)	100
518.050	mLKS - Maus, separat (5 Kavitäten)	50
518.100	mLKS - Maus, separat (10 Kavitäten)	100



AESKU.DIAGNOSTICS GmbH & Co. KG
Mikroforum Ring 2
55234 Wendelsheim, Germany
Tel: +49-6734-9622-0
Fax: +49-6734-9622-2222
Info@aesku.com
www.aesku.com



Rodent Tissues (Ratte/Maus LKS)

1. ZWECKBESTIMMUNG

Bei den o.g. **AESKU SLIDES**-Referenzen handelt es sich um indirekte Immunfluoreszenz-Assays zum Nachweis von Autoantikörpern gegen beispielsweise Mitochondrien (AMA), Glattmuskelzellen (ASMA), Leber-Nieren-Mikrosomen (LNM) oder zirkulierende Parietalzellen (APCA) in Humanserum.

2. KLINISCHE ANWENDUNG

Autoimmun-Erkrankungen werden durch Störungen der immunologischen Reaktionen zellulärer und/ oder humoraler Art hervorgerufen. Diese Reaktionen, welche normalerweise gegen äußere Einflüsse ablaufen, können sich unter bestimmten Umständen gegen den Körper selbst richten und dadurch verschiedenen Krankheiten hervorrufen.

ANA Die Anwesenheit von Anti-nukleären Antikörpern kann in jedem Gewebeschnitt durch nukleäre Fluoreszenz nachgewiesen werden. Darüber hinaus ist der Einsatz zum Screening von ANA-Mustern nicht empfehlenswert, da die HEp-2-Zellen weitaus sensitiver sind und die Erkennung verschiedenster Musterarten möglich ist.

AMA Antimitochondriale Antikörper (AMA) reagieren überwiegend mit der phospholipoidreichen inneren Membran der Mitochondrien. AMA treten vorwiegend bei Erkrankungen wie der primär biliären Zirrhose, dem Pseudo- LE-Syndrom und verschiedenen Formen der chronisch aggressiven Hepatitis auf. Hochtitrige AMA-Befunde findet man vorwiegend bei nichteitrigen Gallenentzündungen oder der primär biliären Zirrhose (positive Befunde in ca 90%). Hier treten die Antikörper schon vor der klinischen Manifestation auf und werden auch durch eine Therapie des Krankheitsverlaufes kaum beeinflusst. Niedrige Antikörpertiter werden bei der Sklerodermie, dem Sjögren-Syndrom, der Rheumatoidarthritis und anderen Autoimmunerkrankungen beobachtet.

ASMA Antikörper gegen glatte Muskulatur treten bei zahlreichen Lebererkrankungen, beispielsweise bei akuten und chronischen Hepatiden, bei der primären biliären Zirrhose sowie anderen Formen der Leberzirrhose auf. Darüberhinaus dient der Nachweis von ASMA bei der Diagnose von SLE, infektiöser Mononukleose, Brust- und Ovarkarzinomen und malignen Melanomen.

LKM: Antikörper, die an das Cytochrom p450 binden, werden üblicherweise mit Autoimmunhepatitis Typ II assoziiert, die in erster Linie bei einer Subpopulation von Mädchen und jungen Frauen auftritt (80% Prävalenz). Sie können auch mit Hepatitis C assoziiert werden.

APCA Zirkulierende Antikörper gegen Strukturen der Parietal- (Beleg-) -zellen der Magenschleimhaut sind in der Regel auf eine perniziöse Anämie zurückzuführen. Sie können aber auch bei anderen Erkrankungen z.B. des Magens (chronische atrophische Gastritis, Magengeschwür), der Schilddrüse (Hashimoto Thyreoiditis, Myxödem), seltener bei Eisenmangelanämie, Diabetes mellitus und bei älteren Menschen auftreten.

Antigencharakterisierungssubstrat: Leber, Niere, Magen aus Ratte oder Maus / Niere, Magen aus Ratte oder Maus

Kreuzreaktionen: keine bekannt

Der Test beruht auf dem Prinzip der indirekten Immunfluoreszenz:

Objektträger sind mit Gewebeschnitten oder Zellen (HEp2 zur Bestimmung von ANA, Granulozyten zur Bestimmung von ANCA oder Crithidia luciliae zur Bestimmung von anti-



nDNA Antikörpern) beschichtet. Enthält ein Patientenserum Antikörper gegen Bestandteile der Gewebe oder Zellen, so binden diese im ersten Inkubationsschritt an das entsprechende Substrat auf dem Objektträger. Ungebundene Serumbestandteile werden in einem Waschschrift entfernt. Die gebundenen Patientenantikörper werden in einem zweiten Inkubationsschritt durch Fluorescein markierte Anti-human Immunglobuline nachgewiesen, welche an die gebundenen Patientenantikörper binden und diese durch ihren Fluoreszenz-Farbstoff sichtbar machen. Es resultiert eine spezifische grüne Fluoreszenz der Antigen-Antikörper-Komplexe, die unter einem Immunfluoreszenz-Mikroskop sichtbar werden.

3. ANWENDUNG DES KITS

Ausführliche Anweisungen sind im Standardhandbuch, Abschnitt 11 unter „Testverfahren“ zu finden. Bei den Kits mit Nagergewebe sind folgende Details zu beachten:

- Dauer der Gegenfärbung: 3-5 Minuten
- Empfohlener Screening-Titer: 1:20

4. AUSWERTUNG

R- oder M-LKS / R- oder M-KS: Die kombinierten Gewebeschnitte ermöglichen die Differenzierung zwischen verschiedenen Antikörpern in einem Testfeld und können daher als diagnostischer Test auf Vorhandensein folgender Autoimmunantikörper verwendet werden (bei unterschiedlichen Antikörpern empfiehlt es sich, weitere Hilfsmittel zur diagnostischen Identifizierung heranzuziehen). Die Beurteilung muss stets mit der Positiv- und Negativkontrolle erfolgen.

ANA: In jedem der vorliegenden Gewebe kann das Vorhandensein von Anti-Nukleus-Antikörpern mittels positiver Kernfluoreszenz nachgewiesen werden.

AMA: Bei Vorhandensein von Anti-Mitochondrien-Antikörpern ergibt sich ein feines granuläres Fluoreszenzmuster im Zytoplasma von Nierentubulizellen. Die Zellen der distalen Tubuli enthalten mehr Mitochondrien und weisen daher im Vergleich zu den Zellen der proximalen Tubuli eine intensivere Fluoreszenz auf.

ASMA: Bei Vorhandensein von ASMA lässt sich in den Glattmuskelfaserzellen der Blutgefäße in Niere und Magen, in der Lamina muscularis mucosa, der Tunica muscularis ventriculi und in den interglandulären kontraktiven Fibrillen der Magenschleimhaut ein Fluoreszenzmuster feststellen.

APCA: Bei Vorhandensein von APCA ergibt sich ein feines granuläres Fluoreszenzmuster in den Parietalzellen der Magenschleimhaut. Da auch AMA mit Parietalzellen reagieren, sollten bei der APCA-Bewertung Anti-Mitochondrien-Antikörper (Nierentubuli) ausgeschlossen werden.

LKM: Im Zytoplasma der Zellen der proximalen, jedoch nicht der distalen Nierentubuli ist eine spezifische Färbung zu sehen. Die Leber weist eine homogene Färbung der Hepatozyten auf, während im Magen keine Färbung zu sehen ist.

AMA:

- 1:20-1:80 (z. B. 10 µl Serum + 790 µl Probenpuffer). Bei mehreren Leberkrankheiten lässt sich eine positive Reaktion feststellen.
- >1:160 (z. B. 10 µl Serum + 1590 µl Probenpuffer) ist ein Anzeichen für biliäre Zirrhose. Der AMA-Titer bleibt über lange Zeit und ungeachtet der Therapie stabil, sodass die Titerbestimmung als Mittel zur Therapiekontrolle nicht hilfreich ist.

ASMA:



- 1:20-1:80 (z. B. 10 µl Serum + 790 µl Probenpuffer). Bei einer Reihe von Leberkrankheiten, bei Virushepatitis und primär biliärer Zirrhose lässt sich eine positive Reaktion feststellen. Allerdings können die Titer dabei unter die Nachweisgrenze fallen. Auch bei Patienten mit Gallenblaseninfekten, alkoholbedingter Zirrhose, SLE und bei 2 % der normalen gesunden Bevölkerung sind unter Umständen schwache Titer vorhanden.
- >1:160 (z. B. 10 µl Serum + 1590 µl Probenpuffer) ist ein Anzeichen für eine chronische aktive Hepatitis. Anders als bei der Virushepatitis fällt der Titer nur leicht und kann mehrere Jahre persistieren. Auch Patienten mit infektiöser Mononukleose können einen hohen ASMA-Titer aufweisen.

APCA: Der APCA-Titer liefert keine Informationen über den Krankheitszustand des Patienten. Das Antikörperergebnis sollte daher zusammen mit der Messung des Intrinsic-Faktors und/oder den histopathologischen Ergebnissen ausgewertet werden.

Der geeignete Endtiter ist der Titer, bei dem das Patientenserum eine einfache positive Fluoreszenz ergibt. Bei einer schwachen Fluoreszenz mit einem Titer zwischen 1:20 und 1:40 oder Unklarheit in Bezug auf die klinischen Ergebnisse ist die Überprüfung der Kontrollen wichtig. In solchen Fällen sind etwa alle 3 Wochen frische Proben zu entnehmen und auf ähnliche Weise zu testen.¹

¹ Thomas L; Labor und Diagnose, 6. Auflage; TH-Books GmbH



6. INHALT DER KITS

6.1 STANDARDKITS

Kit-Ref.	Beschreibung des Kits	OBJEKTTRÄGER (10x je Kit)				KONJUGAT (1x 3,5ml)		POSITIVKONTROLLE (1x 0,5ml)	
		Ref.	Kavitäten	Beschichtet mit	Menge	Ref.	Beschreibung	Ref.	Beschreibung
517.050	rLKS umwickelt, 5 Kavitäten	s517.050	5	LKS-Gewebe Ratte (L/N im Magen verpackt)	1x	CDTIFA	IgG Blauer Verschluss: leicht blau gefärbte Lösung. Inhalt: BSA, Fluoreszein (FITC)- markierter Anti- Human-Antikörper	PCDTIFA	AMA-Positivkontrolle. Roter Verschluss: Farblose Lösung. Inhalt: Humanserum (verdünnt), Natriumazid < 0,1 % (Konservierungsstoff)
517.101	rLKS umwickelt, 10 Kavitäten	s517.101	10	LKS-Gewebe Ratte (L/N im Magen verpackt)	2x				
517.051	rLKS separat, 5 Kavitäten	s517.051	5	LKS-Gewebe Ratte (getrennte LNM-Schnitte)	1x				
517.100	rLKS separat, 10 Kavitäten	s517.100	10	LKS-Gewebe Ratte (getrennte LNM-Schnitte)	2x				
518.050	mLKS separat, 5 Kavitäten	s518.050	5	LKS-Gewebe Maus (getrennte LNM-Schnitte)	1x				
518.100	mLKS separat, 10 Kavitäten	s518.100	10	LKS-Gewebe Maus (getrennte LNM-Schnitte)	2x				
<p>HINWEIS: Der Inhalt der übrigen Kit-Bestandteile, d. h. der Standardreagenzien (Negativkontrolle, Mounting-Medium etc.), ist nachstehend im Abschnitt 7 INHALT DER STANDARDREAGENZIEN.</p>									

6.2 DEMO KITS

Den Inhalt der Demo Kits entnehmen Sie bitte dem entsprechendem Qualitätszertifikat.



7. INHALT DER STANDARDREAGENZIEN

a. Standardreagenzien

Ref.	Reagenz	Menge / Volumen		Beschreibung	Gebrauchsfertig
NCIFA	Negativkontrolle	1x	0.5ml	Grüner Verschluss: Farblose Lösung. Inhalt: Humanserum (verdünnt), Natriumazid < 0,1 % (Konservierungsstoff)	JA
* EBIFA	Evans-Blau 0,2 %	1x	1.5ml	Weißer Verschluss: Blaue Lösung. Inhalt: PBS, Evans-Blau. Das 0,2%ige Evans-Blau 1:3000 in 1 x WBIFA verdünnen	NEIN
** MMIFA	Mounting-Medium	1x	8ml	Für die Anwendung mit dem HELMED® validiert	JA
***MMIFA. Bulk		1x	12ml	Weißer Verschluss: Farblose Lösung. Inhalt: PBS, Glycerin.	
WBIFA	Waschpuffer (10x)	1x	100ml	Weißer Verschluss: Farblose Lösung. Den konzentrierten Puffer 1:10 in destilliertem Wasser (z. B. 100 ml + 900 ml) verdünnen. Inhalt: PBS, Natriumazid (Konservierungsstoff).	NEIN
SBIFA	Probenver- dünnungspuffer	1x	70ml	Weißer Verschluss: Farblose Lösung. zur Verdünnung der Patientenseren Inhalt: BSA, PBS, Natriumazid (Konservierungsstoff).	JA

Mengenangabe je Kit. (*)müssen separat geordert werden

(**) für 517.050, 517.051 und 518.050; (***) 517.101, 517.100 und 518.100

b. Zusätzlich erforderliches Material

1. Destilliertes Wasser
2. Teströhrchen zur Probenverdünnung
3. Messkolben
4. Volumetrische Pipette
5. Timer
6. Fluoreszenzmikroskop mit FITC-System (Anregungsfilter: 490 nm, Barrierefilter: 510 nm)
7. Inkubationswanne
8. Färbewanne
9. Pipettenspitzen
10. Deckgläser (24 x 60 mm)
11. Spritzflasche

Sollten die Produktinformationen, einschließlich der Produktkennzeichnung, beschädigt oder falsch sein, so wenden Sie sich bitte an den Hersteller bzw. Lieferant des Testkits.

8. LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Lagern Sie alle Reagenzien bei 2°C-8°C. Starke Lichteinwirkung ist zu vermeiden. Das Verfallsdatum der einzelnen Komponenten ist auf den jeweiligen Etiketten angegeben. Verwenden Sie die Reagenzien nicht nach dem Verfallsdatum.

Lagern Sie alle Reagenzien und die Objektträger bei 2-8°C in ihren Originalbehältnissen. Rekonstituierte Lösungen sind nach der Zubereitung mindestens 1 Woche bei 2-8°C haltbar.



Die Reagenzien und Objektträger dürfen nur bis zu dem auf den einzelnen Komponenten angegebenen Verfallsdatum verwendet werden.

9. HINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

a. Gesundheitsrisiko

DIESES PRODUKT DARF AUSSCHLIESSLICH ZUR IN VITRO DIAGNOSTIK VERWENDET WERDEN. Die Anwendung muss durch Personal erfolgen, das speziell in der Verwendung von in vitro-Diagnostika unterrichtet und ausgebildet wurde. Die in diesem Produkt enthaltenen Reagenzien sind bei vorschriftmäßigem Gebrauch weder als toxisch noch als gesundheitsgefährlich einzustufen, dennoch sollte zur Gewährleistung der maximalen Sicherheit des Anwenders folgendes eingehalten werden:

Empfehlungen und Vorsichtsmaßnahmen

Dieses Kit enthält potenziell gefährliche Komponenten. Auch wenn die Kitreagenzien nicht als reizend für Augen und Haut eingestuft sind, empfiehlt es sich, den Kontakt mit den Augen und der Haut zu vermeiden und Einweghandschuhe zu tragen.

Die in diesem Produkt enthaltenen Reagenzien humanen Ursprungs (Kontrollen usw.) erwiesen sich bei der Prüfung auf Hepatitis B Oberflächen-Antigen (HbsAg), Hepatitis C und HIV als negativ. Kein Test kann jedoch Viren in derartigem Material mit Sicherheit ausschließen. Daher sind die Kontrollen des Kits sowie Patientenproben als potenziell infektiös einzustufen und gemäß nationalen Vorschriften zu handhaben.

Der Testkit enthält Material tierischen Ursprungs (BSA, Immunglobuline) wie in Kap. „Kitbestandteile“ aufgeführt, befolgen Sie bei Verwendung die nationale Rechtslage.

b. Allgemeine Hinweise

1. Nicht mit dem Mund pipettieren. Während des Arbeitens mit dem Kit nicht essen, trinken oder rauchen
2. Einzelne Komponenten verschiedener Chargen und Testkits sollten nicht ausgetauscht werden, da dies zu Verfälschungen der Messergebnisse führen kann.
3. Nach dem Gebrauch alle Flaschen wieder fest verschließen, um bakterielle Kontaminationen zu vermeiden.
4. Pipettieren Sie immer alle Komponenten mit frischen sterilen Spitzen.
5. Setzen Sie die einzelnen Kit-Komponenten niemals höheren Temperaturen als 37 °C/ 98,6°F aus.
6. Lassen Sie die Objektträger während der gesamten Abarbeitung des Testes niemals austrocknen.
7. Die Objektträger niemals einfrieren !



Es wird empfohlen, dass sich jedes Labor seine eigenen Normalwerte, basierend auf eigener Technik, Kontrollen, Ausrüstung und Patientenpopulation erarbeitet.

Eine endgültige klinische Diagnose sollte nicht alleine auf den Ergebnissen des durchgeführten Tests erfolgen, sondern vom Arzt unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde und Laborbefunde erstellt werden.

Wenn die Ergebnisse des Assays nicht mit den angegebenen Akzeptanzbereichen des Kontrollmaterials übereinstimmen ist der Test ungültig und zu wiederholen. Überprüfen Sie bitte die folgenden Bereiche: Verfallsdatum der (angesetzten) Reagenzien, Lagerungsbedingungen, Pipetten und anderes Material zur Abarbeitung, Photometer, Inkubationszeiten und Waschmethode.

Sollten Sie nach Überprüfung der vorgenannten Bereiche Fehler und Abweichungen erkannt haben oder dass die Validationskriterien ohne erkennbaren Grund nicht erreicht werden, setzen Sie sich bitte mit dem Hersteller oder Ihrem Lieferanten in Verbindung.

10. PROBENENTNAHME, VORBEREITUNG UND LAGERUNG

Die Verwendung frischer Serumproben wird empfohlen. Die Blutentnahme hat nach der nationalen Rechtslage zu erfolgen. Blutproben aseptisch entnehmen.

Lipämische, ikterische, hämolytische oder bakteriell kontaminierte Serumproben nicht verwenden.

Bei trüben Proben die Partikel niedrig abzentrifugieren (<1000 x g). Blutproben in saubere, trockene und leere Röhrchen aufnehmen. Nach der Trennung sollten die Serumproben innerhalb von 8 Stunden verwendet werden bzw. bei 2-8°C für bis zu 48 Stunden gelagert werden. Ist eine längere Lagerung beabsichtigt, sollten die Proben bei -20°C tiefgefroren werden. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren vermeiden.

11. TESTDURCHFÜHRUNG

a. Vorbereitung

Bringen Sie alle Komponenten vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20-26°C) und mischen Sie diese gut. Halten Sie die empfohlenen Inkubationszeiten ein, um ein optimales Testergebnis zu erzielen.

1. Vorbereitung des Waschpuffers: Den konzentrierten Puffer 1:10 in destilliertem Wasser verdünnen.
2. Probenverdünnung: Die Patientenserum mit 1-fach konzentriertem (1x) Probenpuffer verdünnen (für Screening-Titer siehe o.g. Abschnitt **Anwendung des Kits** unter Bezugnahme auf die verwendete Produktreferenz). Die Verdünnungen sind je nach Kit zum Nachweis von HEP-2, nDNA, rLKS, EMA, ANCA etc. unterschiedlich.
3. Die Kontrollen sind gebrauchsfertig.
4. Protokollerstellung: Datenauswertungsbögen befinden sich im Abschnitt **Anwendung des Kits** unter Bezugnahme auf die verwendete Produktreferenz.



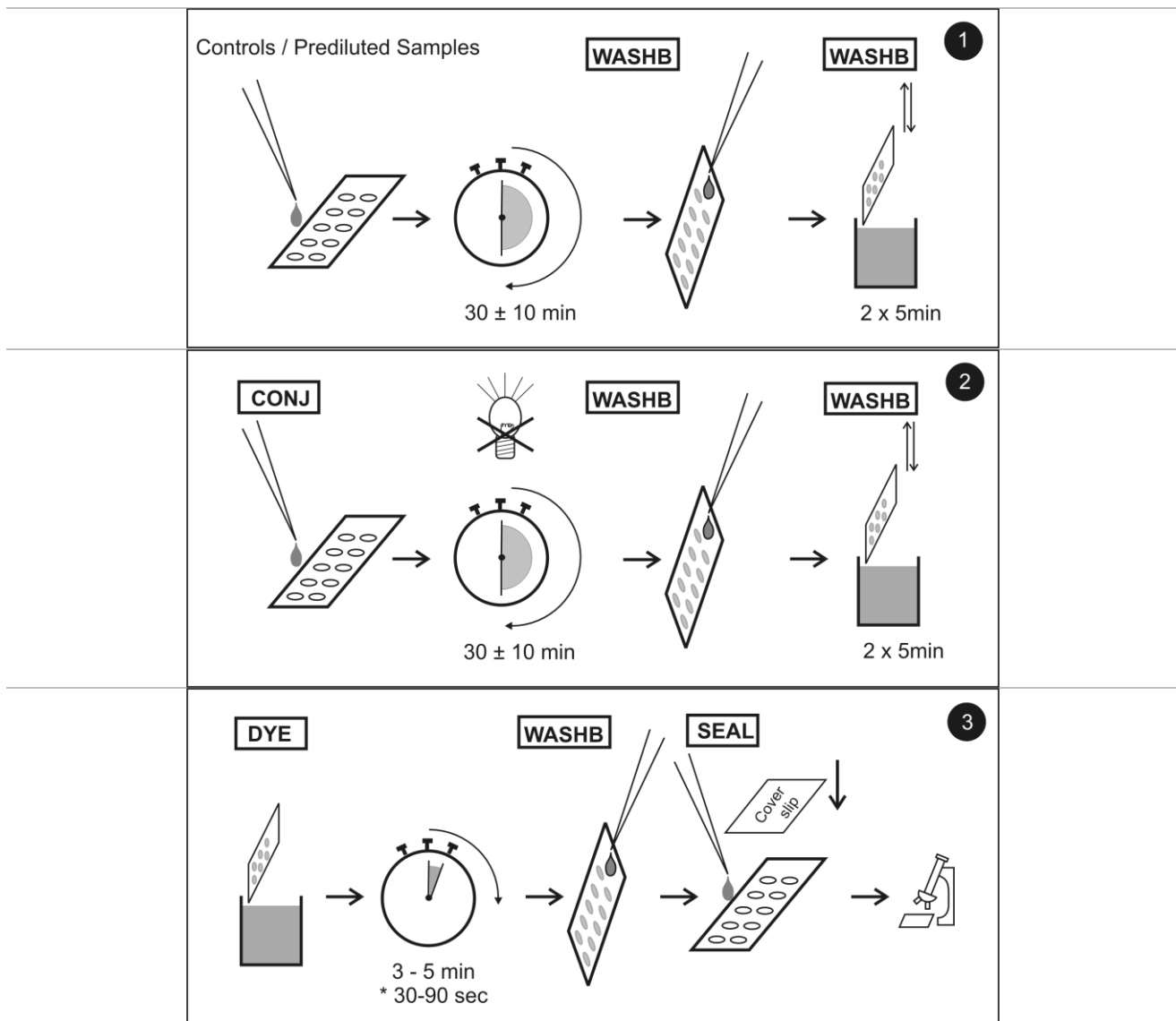
b. Testdurchführung

Nr.	Beschreibung der Schritte
1.	Entfernen Sie die für Ihren Test erforderlichen Objektträger aus der Schutzverpackung und beschriften Sie diese. Vermeiden Sie ein Berühren der beschichteten Gewebe oder Zellen. Den Objektträger niemals austrocknen lassen.
2.	<p>Vorbereitung der Inkubationsschale: Platzieren Sie eine kleine Menge deionisiertes oder destilliertes Wasser in der Inkubationswanne und setzen Sie die Objektträger ein.</p> <p>Inkubieren Sie die Objektträger 30 Minuten \pm 10 Minuten bei Raumtemperatur in der feuchten Inkubationswanne. Benutzen Sie dieselbe Inkubationszeit für das Konjugat</p> <p>Erste Inkubation: Pipettieren Sie von jedem zu testendem Patientenserum und den Kontrollen (gebrauchsfertig) eine ausreichende Menge in die entsprechenden Kavitäten. Vermeiden Sie einen direkten Kontakt der Pipettenspitze mit der Objektträgeroberfläche.</p> <p>Stellen Sie sicher, dass jedes Testfeld vollständig mit dem entsprechenden Serum bzw. der Kontrolle benetzt ist. Hierfür ist es wichtig, so viel Testmaterial wie notwendig zu verwenden, ein Ineinanderlaufen der verschiedenen Serumproben ist jedoch zu vermeiden, da dies zu falschen Resultaten führen kann.</p>
3.	<p>Waschen: Nach der Inkubation entnehmen Sie die Objektträger aus der Inkubationsswanne und spülen diese kurz unter Verwendung einer Spritzflasche mit Waschpuffer ab. Richten Sie den Waschpufferstrom nicht direkt auf die Kavitäten.</p> <p>Achtung: Um Kreuzkontaminationen auf dem Objektträger zu vermeiden, richten Sie bitte den Waschpufferstrom entlang der Mittellinie des Objektträgers und lassen ihn vorsichtig an der unteren Kante ablaufen. Dann kippen Sie den Objektträger und wiederholen den Vorgang für die andere Reihe, auch hier den Waschpufferstrom an der nun unteren Kante ablaufen lassen.</p> <p>Waschen Sie anschließend die Objektträger 10 Minuten mit Waschpuffer in einer Färbeküvette. Vermeiden Sie jegliche Berührung des Substrats mit anderen Objekten. Um optimale Resultate zu erzielen ist es erforderlich, den Waschpuffer einmal nach 5 Minuten zu wechseln.</p> <p>Entnehmen Sie die Objektträger aus der Färbeküvette und entfernen Sie vorsichtig einen verbliebenen Überschuss an Waschpuffer.</p> <p>HINWEIS: Achten Sie unbedingt darauf, dass die Kavitäten während des Verfahrens nicht austrocknen und das Substrat nicht beschädigt wird. Bitte blotten bzw. trocknen Sie den Objektträger keinesfalls. Lassen Sie den Objektträger nicht länger als einige Sekunden ohne Fluoreszenz-Antikörperreagens stehen.</p>
4.	<p>Zweite Inkubation: Nach dem Waschen bringen Sie den Objektträger unverzüglich in die feuchte Kammer und bedecken Sie jedes Testfeld mit einer ausreichenden Menge des gebrauchsfertigen FITC markierten Konjugates, so dass das Testfeld vollständig bedeckt ist.</p> <p>Inkubieren Sie die Objektträger 30 Minuten \pm 10 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln.</p>
5.	<p>Waschen: Nach der Inkubation entnehmen Sie den Objektträger aus der Inkubationsschale und spülen Sie ihn kurz mit Waschpuffer ab. Verwenden Sie hierzu eine Spritzflasche. Richten Sie den Waschpufferstrom nicht direkt auf die Gewebeschnitte oder Zellen. Waschen Sie anschließend die Objektträger 10 min mit Waschpuffer in einer Küvette. Um optimale Resultate zu erzielen ist es erforderlich, den Waschpuffer einmal nach 5 Minuten zu wechseln.</p>
6.	<p>* Optionale Gegenfärbung: Verdünnen Sie das Gegenfärb-Reagens (Evans Blue) 1:3000 in Waschpuffer und mischen Sie es gut. Füllen Sie das Evans Blue in eine</p>



	<p>Färbeküvette und inkubieren Sie die Objektträger darin. Siehe o.g. Abschnitt Anwendung des Kits für die jeweiligen Inkubationszeiten der einzelnen Produktreferenzen. Evans Blue unterdrückt eine unspezifische Hintergrund-Fluoreszenz.</p> <p>Entnehmen Sie den Objektträger nach der Inkubationszeit und spülen Sie diesen kurz mit Waschpuffer. Entfernen Sie vorsichtig einen verbliebenen Überschuss an Waschpuffer. Bitte blotten Sie die Objektträger nicht auf saugfähiges Papier, ebenso dürfen diese niemals jeglicher Trocknung unterzogen werden.</p>
7.	<p>Eindecken: Geben Sie eine ausreichende Menge an Eindeckmedium (Mounting Medium) entlang der Mittellinie auf den Objektträger. Lassen Sie vorsichtig das Deckglas auf das Eindeckmedium gleiten, vermeiden Sie dabei die Bildung von Luftblasen.</p>
8.	<p>Mikroskopieren: Mikroskopieren Sie die Objektträger unverzüglich bei 400 bis 800 facher Vergrößerung mit einem Fluoreszenz-Mikroskop (490 nm Anregungsfilter, 510 nm Grenzfilter).</p>

c. Arbeitsablauf





12. FEHLERBEHEBUNG

FEHLER	MÖGLICHE URSACHEN	LÖSUNG
Geringe Zelldichte	Zelllyse durch Kontakt mit deionisiertem Wasser Puffer direkt auf die Zellen gespritzt	Halten Sie die angegebenen Waschbedingungen ein
	Proteolytische Enzyme haben die Zellen angegriffen	Inaktivieren Sie das Serum
Ungleichmäßige Fluoreszenz	Serum ist auf den Testfeldern eingetrocknet, Fluoreszenz ist an den Rändern stärker	stets in feuchter Umgebung inkubieren
	Serum bedeckt nicht das Testfeld	Verwenden Sie ein ausreichendes Volumen an Testmaterial
	Kreuzreaktionen zwischen Testfeldern	ein Überlaufen der Proben zwischen den Testfeldern bei der ersten Inkubation vermeiden
	Beschriftung des Objektträgers mit einem Wachsstift erzeugt einen Film	Verwenden Sie einen Bleistift
	Mikroskop falsch justiert	Überprüfen Sie die Justierung
Bild diffus	Objektträger im Kühlschrank ohne Bedeckung gelagert	Versiegeln Sie das Deckglas mit Nagellack oder Paraffinwachs
	I.F. Mikroskop verschmutzt. Mögliche Kratzer auf der Linse	Säubern Sie das Mikroskop entsprechend der Bedienungsanleitung
Geringe oder keine Fluoreszenz	Konjugat und Objektträger eingefroren und wieder aufgetaut	Konjugate und Objektträger bei 2-8°C/35-46°F lagern.
	Kontrollen wurden verdünnt	Überprüfen Sie die Anleitung, verwenden Sie die gebrauchsfertigen Kontrollen des Kits
	Bakterielle Kontamination der Seren oder Konjugate - Mikroskop nicht justiert - pH-Wert des Waschpuffers zu niedrig (pH Wert 7.4 ± 0.2)	Bedingungen überprüfen
	- FITC Konjugat Licht ausgesetzt	Konjugat unter Vermeidung von Lichteinfall lagern
Background Fluoreszenz	- Falsch gewaschen - Objektträger ist ausgetrocknet - Lipämische, hämolytische Seren - Mikroskop Fehler	-Waschvorgaben überprüfen -Objektträger niemals austrocknen lassen -frische Seren verwenden -Überprüfen Sie die Filter / das Objektiv



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	° Catalogue number
	° Référence Catalogue	° Numéro de catálogo
	° Bestellnummer	° 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 instruções 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	° Store at 2-8°C (35-46°F)
	° Conserver à 2-8°C	° Conservar a 2-8°C
	° Lagerung bei 2-8°C	° Φυλάσσεται στους 2-8°C
	° Conservar entre 2-8°C	
	° 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
	° Controllo positivo	
CONTROL -	° Controllo negativo	° Negative Control
	° Contrôle Négatif	° Control Negativo
	° Negativ Kontrolle	° Αρνητικός ορός ελέγχου
	° Controllo 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
	° Lámina	
WASHB 10x	° Tampone di lavaggio	° Wash Buffer
	° Tampon de Lavage	° Solução de lavagem
	° Waschpuffer	° Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	° Solución de lavado	
SB 1x	° Tampone di campione	° Sample Buffer
	° Tampon de Echantillons	° Solução de Muestras
	° Probenpuffer	° Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	° Solución de Muestras	
	° XX determinazioni	° XX tests
	° XX tests	° XX pruebas
	° XX Bestimmungen	° XX προσδιορισμοί
	° XX Testes	