

**AESKUSLIDES<sup>®</sup>**  
*THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS*

**INSTRUCTION  
MANUAL**

**GREEK**





**AESKUSLIDES®**  
THE IFA PRODUCT LINE



## Οδηγίες χρήσης

### nDNA (Crithidia Luciliae)

Αναφ. προτύπου	Περιγραφή	Δοκιμές
53.100	nDNA (10 βοθρία)	100





## nDNA (*Crithidia luciliae*)

Αναφ.	Περιγραφή	Δοκιμές
<b>53.100</b>	<b>nDNA</b> (10 βοθρία)	100
<b>53.100.Demo</b>	<b>nDNA</b> (10 βοθρία), ΚΙΤ επίδειξης	20

### 1. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

**AESKUSLIDES nDNA (*Crithidia luciliae*)** είναι μία δοκιμασία έμμεσου ανοσοφθορισμού για τον προσδιορισμό αυτοαντισωμάτων IgG έναντι της φυσικής διπλής έλικας του DNA στον ανθρώπινο ορό.

### 2. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΚΑΙ ΑΡΧΕΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

Τα αντισώματα που συνδέονται με το DNA ανήκουν σε μία ομάδα αντιπυρηνικών αντισωμάτων, τα οποία παρατηρούνται σε μεμονωμένες αυτοάνοσες νόσους. Αντισώματα, τα οποία αντιδρούν με φυσικό δίκλωνο DNA, θεωρούνται ειδικά για το συστηματικό ερυθηματώδη λύκο (ΣΕΛ) και παρατηρούνται περίπου στο 50-80% των ασθενών. Αντισώματα έναντι του dsDNA διαπιστώνονται σε ενεργές φάσεις του ΣΕΛ. Η εμφάνιση της συγκέντρωσης ορού είναι ανάλογη με τη βαρύτητα της ασθένειας. Για το λόγο αυτό η διαπίστωση αυτών των αυτοαντισωμάτων είναι σημαντική για τη διάγνωση και για την κλινική παρακολούθηση του ΣΕΛ. Σύμφωνα με αυτά καθιερώθηκε ως ένα από τα ένδεκα κριτήρια ACR για τη διάγνωση του ΣΕΛ. Οι περισσότεροι ασθενείς με ΣΕΛ έχουν αντισώματα IgG ενάντια του dsDNA. Αυτά τα αυτοαντισώματα σχετίζονται με την εμφάνιση της νεφρίτιδας του λύκου. Σχεδόν το 30% των ασθενών που πάσχουν από ΣΕΛ έχουν πρόσθετα αντι-dsDNA-αντισώματα της υποομάδας IgA. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η εμφάνιση αυτών των αντισωμάτων IgA anti-dsDNA ίσως να ορίζουν μία συγκεκριμένη υποομάδα ασθενών με ΣΕΛ. Πράγματι σε μελέτες καταδείχτηκε η συσχέτιση αυτής της υποομάδας με συγκεκριμένες παραμέτρους της δραστηριότητας της νόσου, π.χ. αυξημένη καθίζηση ερυθροκυττάρων ή την κατανάλωση παραγόντων C3 του συμπληρώματος, όπως επίσης και με τις κλινικές παραμέτρους της δερματικής αγγειίτιδας, της νέκρωσης των άκρων και του ερυθήματος. Ωστόσο δεν βρέθηκε συσχέτιση με τη νεφρίτιδα και την αρθρίτιδα.

Αντισώματα IgM αντι-dsDNA βρέθηκαν στο 52% των ασθενών με ΣΕΛ. Σε αντίθεση με τα αυτοαντισώματα IgG και IgA, τα αντισώματα της υποομάδας IgM δε σχετίζονται με τη δραστηριότητα της νόσου. Ωστόσο παρατηρήθηκε μία πολύ σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ της διαπίστωσης των αντισωμάτων IgM αντι-dsDNA και της νεφρίτιδας του λύκου, συμπεριλαμβανομένου των εργαστηριακών παραμέτρων. Για το λόγο αυτό, αποδίδεται στα IgM αντι-dsDNA-αντισώματα, μία προστατευτική ικανότητα έναντι της εκδήλωσης νεφρίτιδας του λύκου.

**Χαρακτηρισμός αντιγόνων:** μιτοχονδριακό DNA από *Crithidia luciliae*

**Αντιδράσεις διασταύρωσης:** Δεν έχουν γίνει γνωστές

Η δοκιμασία βασίζεται στην αρχή του προσδιορισμού έμμεσου ανοσοφθορισμού: Οι γυάλινες αντικειμενοφόροι μικροσκοπίου επικαλύπτονται με τομές ιστών ή κύτταρα (κύτταρα HEp-2 για τον προσδιορισμό ANA, κοκκιοκύτταρα για τον προσδιορισμό ANCA ή *Crithidia luciliae* για τον προσδιορισμό αντι nDNA αντισωμάτων). Αν ο ορός του ασθενούς περιέχει αντισώματα ενάντια σε συστατικά συτοιχεία των ιστών ή κυττάρων αυτά συνδέονται κατά τη διάρκεια της πρώτης επώασης στο αντίστοιχο υπόστρωμα επάνω στο αντικειμενοφόρο. Το μη δεσμευμένο υλικό απομακρύνεται με ένα βήμα πλύσης. Τα συνδεδεμένα αντισώματα του ασθενή ανιχνεύονται με αντιανθρώπινες ανοσοσφαιρίνες σημασμένες με φλουορεσκαΐνη κατά τη διάρκεια της δεύτερης επώασης, τα οποία συνδέονται στα συνδεδεμένα αντισώματα του ασθενή και απεικονίζονται με την χρωστική τους ουσία φθορισμού. Προκύπτει μια ειδική πράσινη φθορίζουσα χρώση συμπλέγματος αντιγόνου-αντισώματος, η οποία μπορεί να απεικονιστεί με τη βοήθεια ενός μικροσκοπίου φθορισμού.



### 3. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΚΙΤ

Ανατρέξτε στη Διεξαγωγή δοκιμασίας στην Ενότητα 11, του Κοινού εγχειριδίου, για λεπτομερείς οδηγίες. Τα παρακάτω στοιχεία θα χρησιμοποιηθούν για τα κιτ nDNA:

- Χρόνος αντίχρωσης: 30 έως 90 δευτερόλεπτα
- Συνιστώμενος τίτλος ελέγχου: 1:10

### 4. ΕΡΜΗΝΕΙΑ

Τίτλος ελέγχου 1:10

Τα *Crithidia luciliae* περιέχουν ένα γιγάντιο μιτοχόνδριο, γνωστό επίσης και ως κινητοπλάστης, που περιέχει μόνο dsDNA.

Στην παρουσία αντισωμάτων έναντι nDNA, είναι ορατός ένας ομοιογενής φθορισμός του κινητοπλάστη ή μάλλον του πυρηνίσκου και του κινητοπλάστη που βρίσκεται ανάμεσα στον πυρηνίσκο και το βασικό σώμα κοντά στο μαστίγιο.

Η αξιολόγηση θα πρέπει να διεξάγεται πάντα με θετικούς και αρνητικούς μάρτυρες.

Το δείγμα θα πρέπει να αξιολογείται ως αρνητικό έναντι nDNA αν ο φθορισμός του βασικού σώματος προκύπτει κοντά στην πρόλευση του μαστιγίου ή του πυρηνίσκου μόνο και δεν υπάρχουν συγκεκριμένα αντισώματα nDNA.

Παραδείγματα για αραιώση:

1:10	10μL ορού	+	90μL ρυθμιστικού διαλύματος δείγματος
1:20	10μL ορού	+	190μL ρυθμιστικού διαλύματος δείγματος
1:40	10μL ορού	+	390μL ρυθμιστικού διαλύματος δείγματος
1:80	10μL ορού	+	790μL ρυθμιστικού διαλύματος δείγματος

κ.ο.κ.

Ο ανοσοφθορισμός εμφανίζει μια χαρακτηριστική σχηματομορφή διπλών κηλίδων στην παρουσία των αντι-ds-DNA, ενώ μόνο ο πυρηνίσκος εμφανίζει φθορισμό στην περίπτωση των μη θετικών dsDNA πυρηνικών αντισωμάτων. (Το dsDNA είναι ένα σημαντικό αυτοαντιγόνο στο ΣΕΛ με ακρίβεια 95% ).

Σε ασθενείς με ΣΕΛ, παρατηρούνται αντισώματα με ποικιλία πυρηνικών αντιγόνων. Ο σημαντικότερος συσχετισμός με αυτήν τη νόσο υποδηλώνεται από το αντίσωμα κατά του Sm (γλυκοπρωτεΐνη) το οποίο εμφανίζεται ως μια σειρά διάστικτων σχηματομορφών στα κύτταρα HEp-2 και το αντίσωμα κατά του nDNA (περιφερική ή ομοιογενής σχηματομορφή στα κύτταρα HEp-2).

Τα αντισώματα έναντι της φυσικής διπλής έλικας του DNA είναι ιδιαίτερος συγκεκριμένα για το ΣΕΛ. Παρόλο που τα χαμηλά επίπεδα αντισώματος κατά του nDNA ενδέχεται να παρατηρούνται και σε άλλες νόσους, π.χ. στο σύνδρομο Sjögren, στη μεικτή νόσο του συνδετικού ιστού (MCTD) και τη δερματομυοσίτιδα, υψηλοί τίτλοι αντισωμάτων κατά του nDNA ανιχνεύονται σχεδόν αποκλειστικά στο ΣΕΛ.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Storch WB; Immunfluoreszenz-Fibel 2<sup>nd</sup> Edition; Blackwell Wissenschaftsverlag 1997





## 6. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΤΥΠΙΚΟΥ ΚΙΤ

### 6.1 ΤΥΠΙΚΑ ΚΙΤ

Αναφ. ΚΙΤ	Περιγραφή του ΚΙΤ	ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟΦΟΡΟΙ (10x σε κάθε κιτ)			ΣΥΖΕΥΓΜΑ (1x 4 ml)		ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ (1x 0,5 ml)	
		Αναφ.	Βοθρία	Επικαλυμμένα με	Αναφ.	Περιγραφή	Αναφ.	Περιγραφή
53.100	nDNA (10 βοθρία)	s53.100	10	Κύτταρα <i>Crithidia Luciliae</i>	C53.100	<b>IgG</b> Μπλε καπάκι: διάλυμα ελαφρώς μπλε χρώματος. Συστατικά στοιχεία: BSA, Φλουορεσκαΐνη (FITC)-επισημασμένο αντι-ανθρώπινο αντίσωμα	PC53.100	Θετικός μάρτυρας nDNA. Κόκκινο καπάκι: άχρωμο διάλυμα. Συστατικά στοιχεία: Ανθρώπινος ορός (διαλυμένος), οξείδιο του νατρίου < 0,1% (συντηρητικό)

**ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Τα περιεχόμενα των υπόλοιπων συστατικών των κιτ, δηλαδή, τα κοινά αντιδραστήρια (αρνητικός ορός ελέγχου, μέσο μονιμοποίησης κλπ.) περιγράφονται παρακάτω στην ενότητα 7 ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΚΟΙΝΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ.

### 6.2 ΚΙΤ ΕΠΙΔΕΙΞΗΣ

Για το περιεχόμενο του demo κιτ αναφέρονται στο αντίστοιχο πιστοποιητικό ανάλυσης.



## 7. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΚΟΙΝΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

### a. Κοινά αντιδραστήρια

Αναφ.	αντιδραστήριο	Ποσότητα / Όγκος		Περιγραφή	Έτοιμο προς χρήση
<b>NCIFA</b>	Αρνητικός μάρτυρας	1x	0.5ml	Πράσινο καπάκι: άχρωμο διάλυμα. Συστατικά στοιχεία: Ανθρώπινος ορός (διαλυμένος), οξείδιο του νατρίου < 0,1% (συντηρητικό)	ΝΑΙ
<b>* EBIFA</b>	Evans Blue 0,2%	1x	1.5ml	Λευκό καπάκι: Διάλυμα μπλε χρώματος Συστατικά στοιχεία: PBS, Evans Blue. Αραιώστε το Evans Blue 0,2% κατά 1:3000 σε 1x WBIFA	ΟΧΙ
<b>MMIFA</b>	Μέσο μονιμοποίησης	1x	8ml	Εγκεκριμένο για χρήση με το HELMED® Λευκό καπάκι: άχρωμο διάλυμα Συστατικά στοιχεία: PBS, Γλυκερίνη.	ΝΑΙ
<b>WBIFA</b>	Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (10x)	1x	100ml	Λευκό καπάκι: άχρωμο διάλυμα Αραιώστε το συμπυκνωμένο ρυθμιστικό διάλυμα κατά 1:10 σε αποσταγμένο νερό (π.χ.: 100 ml + 900 ml). Συστατικά στοιχεία: PBS, οξείδιο του νατρίου (συντηρητικό).	ΟΧΙ
<b>SBIFA</b>	Ρυθμιστικό διάλυμα δείγματος	1x	70ml	Λευκό καπάκι: άχρωμο διάλυμα για την αραιώση του ορού του ασθενούς Συστατικά στοιχεία: BSA PBS, οξείδιο του νατρίου (συντηρητικό).	ΝΑΙ

Οι ποσότητες ανά κιτ είναι οι εξής. (\*) πρέπει να παραγγελθούν ξεχωριστά

### b. Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

1. Αποσταγμένο νερό
2. Δοκιμαστικοί σωλήνες για αραιώση δειγμάτων
3. Δοχείο μέτρησης
4. Ογκομετρική πιπέτα
5. Χρονόμετρο
6. Μικροσκόπιο φθορισμού με σύστημα FITC, (φίλτρο διέγερσης 490nm, φίλτρο αποκοπής 510nm)
7. Δίσκος επώασης
8. Τρυβλίο χρώσης
9. Ρύγχη πιπετών
10. Καλυπτρίδες (24x60 mm)
11. συμπίεση υδροβολέα

**Στην περίπτωση κατά την οποία οι πληροφορίες του προϊόντος, συμπεριλαμβανομένων των ετικετών, είναι ελλιπείς ή εσφαλμένες, επικοινωνήστε με τον κατασκευαστή ή τον προμηθευτή του κιτ δοκιμής.**





## 8. ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ

Φυλάσσετε όλα τα αντιδραστήρια σε 2°C - 8°C στα αρχικά τους δοχεία, προστατευμένα από το έντονο φως. Πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η ημερομηνία λήξης του κάθε μέρους που υποδεικνύεται στην ετικέτα. Μην χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης.

Φυλάσσετε όλα τα αντιδραστήρια και τα πλακίδια σε θερμοκρασία 2-8°C, στα αρχικά τους δοχεία. Όταν παρασκευαστούν, τα αραιωμένα διαλύματα είναι σταθερά για τουλάχιστον 1 εβδομάδα σε θερμοκρασία 2-8°C. **Τα αντιδραστήρια και τα πλακίδια πρέπει να χρησιμοποιηθούν μόνο πριν από την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται σε κάθε μέρος.**

## 9. ΥΠΟΔΕΙΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΧΡΗΣΗΣ

### a. Δεδομένα κινδύνου για την υγεία

#### **ΑΥΤΟ ΤΟ ΠΡΟΪΟΝ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ IN VITRO.**

Ως εκ τούτου, μόνο εκπαιδευμένο προσωπικό και ενημερωμένο ειδικά για τις μεθόδους in vitro διαγνωστικής μπορεί να χρησιμοποιήσει το κιτ. Παρόλο που αυτό το προϊόν δεν θεωρείται ιδιαίτερα τοξικό ή επικίνδυνο σε συνθήκες κανονικής χρήσης, ανατρέξτε στα ακόλουθα για μέγιστη ασφάλεια:

#### **Συστάσεις και προφυλάξεις**

Αυτό το κιτ περιέχει δυνητικά επικίνδυνα μέρη. Αν και τα αντιδραστήρια του κιτ δεν ταξινομούνται ως ερεθιστικά για τα μάτια και το δέρμα, συνιστούμε την αποφυγή της επαφής με τα μάτια και το δέρμα και τη χρήση αναλώσιμων γαντιών.

Όλα τα υλικά ανθρώπινης προέλευσης που χρησιμοποιούνται για μερικά αντιδραστήρια αυτού του κιτ (έλεγχοι και βαθμονομητές κ.λπ.) έχουν ελεγχθεί με εγκεκριμένες μεθόδους και έχουν βρεθεί αρνητικά για HBsAg, ηπατίτιδα C και HIV. Ωστόσο, καμία εξέταση δεν μπορεί να εγγυηθεί απολύτως την απουσία ιογενών παραγόντων σε τέτοια υλικά. Για το λόγο αυτό, οι έλεγχοι, οι βαθμονομητές του κιτ και τα δείγματα των ασθενών θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ως δυνητικά υλικά μετάδοσης λοιμωδών νόσων και σύμφωνα με τις εθνικές απαιτήσεις.

Το διαγνωστικό σύνολο περιέχει υλικό ζωικής προέλευσης (αλβουμίνη βοός BSA, ανοσοσφαιρίνη), όπως αναγράφεται στον πίνακα περιεχομένων, χειριστείτε το ανάλογα με τις εθνικές οδηγίες και απαιτήσεις.

### b. Γενικές οδηγίες χρήσης

1. Μην αναρροφάτε με πιπέτα με το στόμα. Μην καπνίζετε, μην τρώτε και μην πίνετε κατά το χειρισμό του κιτ.
2. Μην αναμειγνύετε ή υποκαθιστάτε αντιδραστήρια από διαφορετικούς αριθμούς παρτίδας. Κάτι τέτοιο ενδέχεται να προκαλέσει μεταβολές των αποτελεσμάτων.
3. Κρατήστε όλα τα δοχεία σφραγισμένα μετά τη χρήση για την αποφυγή βακτηριακής μόλυνσης.
4. Εκτελείτε πάντοτε μεταφορά με πιπέτα όλων των διαλυμάτων με νέα αποστειρωμένα ρύγχη μεταφοράς με πιπέτα.
5. Μην εκθέτετε ποτέ τα μέρη σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 37°C / 98,6°F.
6. Ποτέ μην αφήνετε τις υποδοχές της αντικειμενοφόρου να αποξηραίνονται καθόλη τη διάρκεια της διαδικασίας.
7. Ποτέ μην καταψύχετε τις αντικειμενοφόρους!



**Συνιστάται κάθε εργαστήριο να καθιερώσει τις δικές του φυσιολογικές τιμές με βάση τις τεχνικές, τους ελέγχους, τον εξοπλισμό και τον πληθυσμό ασθενών του, σύμφωνα με τις καθιερωμένες διαδικασίες του εργαστηρίου.**

**Η οριστική κλινική διάγνωση δεν θα πρέπει να βασίζεται μόνο στα αποτελέσματα των εκτελούμενων εξετάσεων, αλλά θα πρέπει να τίθεται από τον ιατρό μετά από την αξιολόγηση όλων των κλινικών και εργαστηριακών ευρημάτων.**

Στην περίπτωση κατά την οποία τα αποτελέσματα των δοκιμών δεν συμφωνούν με τα κριτήρια, η δοκιμή είναι άκυρη και θα πρέπει να επαναληφθεί. Θα πρέπει να ελεγχθούν οι παρακάτω τομείς: Ημερομηνίες λήξης (κατ' εκτίμηση) των αντιδραστηρίων, συνθήκες αποθήκευσης, πιπέτες και άλλα υλικά επεξεργασίας, φωτόμετρο, χρόνοι επώασης και μέθοδος πλύσης. Στην περίπτωση κατά την οποία τα αποτελέσματα δεν παρουσιάζουν καμία απόκλιση ή άλλου είδους διαφοροποίηση από τις αναμενόμενες τιμές, επικοινωνήστε με τον κατασκευαστή ή τον προμηθευτή σας.

## 10. ΣΥΛΛΟΓΗ, ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΦΥΛΑΞΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Χρησιμοποιείτε κατά προτίμηση δείγματα ορού που έχουν συλλεχθεί πρόσφατα. Η αιμοληψία πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τις εθνικές απαιτήσεις. Συλλέξτε τα δείγματα αίματος με ασηπτικές μεθόδους.

Μη χρησιμοποιείτε λιπαιμικά, ικτερικά, αιμολυμένα ή μικροβιακά μολυσμένα δείγματα.

Σε περίπτωση θολών δειγμάτων, να διεξάγεται φυγοκέντρηση σε χαμηλές στροφές (<1000 x g). Τα δείγματα αίματος πρέπει να συλλέγονται σε καθαρά, στεγνά και άδεια σωληνάρια. Μετά το διαχωρισμό, τα δείγματα ορού πρέπει να χρησιμοποιούνται εντός 8 ωρών, να αποθηκεύονται αντίστοιχα σφικτά κλεισμένα σε 2-8°C για έως και 48 ώρες ή σε κατάψυξη σε -20°C για μακρύτερες περιόδους. Αποφεύγετε την επανειλημμένη κατάψυξη και απόψυξη.

## 11. ΔΙΕΞΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ

### a. Προετοιμασία

Αφήστε όλα τα συστατικά να έλθουν σε θερμοκρασία δωματίου (20 - 26°C) πριν τη χρήση, αναμείξτε καλά και ακολουθήστε το συνιστώμενο σχήμα επώασης για μια βέλτιστη απόδοση της εξέτασης.

1. Προετοιμασία του Ρυθμιστικού ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης: Αραιώστε το συμπυκνωμένο ρυθμιστικό διάλυμα κατά 1:10 σε αποσταγμένο νερό.
2. Αραίωση δειγμάτων: Αραιώστε ορό ασθενούς (για τον τίτλο ελέγχου ανατρέξτε στην ενότητα **Διαδικασία κιτ** παραπάνω σύμφωνα με την αναφορά προϊόντος που χρησιμοποιείτε) με 1x ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης. Αυτά διαφέρουν ανάμεσα στα κιτ HEp-2, nDNA, rLKS, EMA κλπ.
3. Οι μάρτυρες είναι έτοιμοι για χρήση.
4. Προετοιμασία πρωτοκόλλου: Φύλλα ερμηνείας δεδομένων είναι διαθέσιμα στην ενότητα **Διαδικασία κιτ** παραπάνω σύμφωνα με την αναφορά προϊόντος που χρησιμοποιείτε.



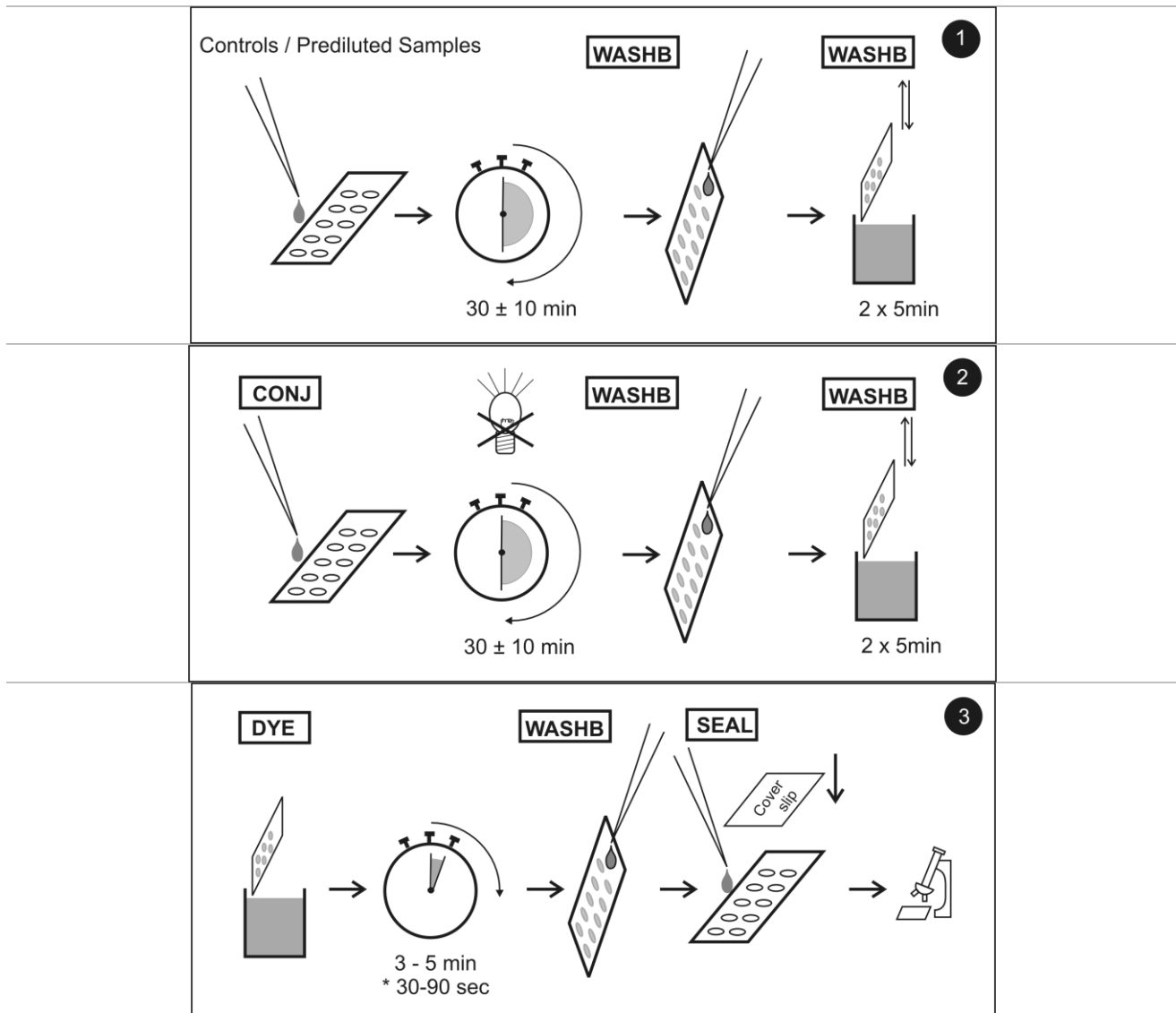
## b. Διεξαγωγή δοκιμασίας

Αρ.	Περιγραφή βημάτων
1.	<p>Αφαιρέστε τις απαιτούμενες αντικειμενοφόρους που απαιτούνται για τη δοκιμασία σας από την προστατευτική συσκευασία και σημαδέψτε τις αναγράφοντας τα στοιχεία. Μην αγγίζετε τις υποδοχές ιστών και κυττάρων.</p> <p>Μην αφήνετε ποτέ τις αντικειμενοφόρους να στεγνώσουν.</p>
2.	<p><b>Προετοιμασία του δίσκου θερμοκοιτίδα:</b> Τοποθετείστε μικρή ποσότητα απεσταγμένου ή απιονισμένου νερού σε ένα δοχείο επώασης και τοποθετείστε τα πλακίδια στις ειδικές θέσεις υποστήριξης του δοχείου επώασης.</p> <p>Επώαστε τα πλακίδια <math>30 \pm 10</math> λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου στο υγρό δοχείο επώασης. Διατηρείστε σταθερούς χρόνους επώασης με το αντιδραστήριο σύζευξης (conjugate).</p> <p><b>Πρώτη επώαση:</b> Μεταφέρετε με πιπέτα κατάλληλη ποσότητα από κάθε αραιωμένο ορό ασθενή στις κατάλληλες υποδοχές και αποφύγετε τη στενή επαφή της πιπέτας με την επιφάνεια της αντικειμενοφόρου. Αποφύγετε την άμεση επαφή της πιπέτας με την επιφάνεια της αντικειμενοφόρου. Φροντίστε κάθε υποδοχή να καλυφθεί πλήρως με τον αντίστοιχο ορό ή έλεγχο. Είναι σημαντικό να χρησιμοποιήσετε όσο υλικό εξέτασης χρειάζεται για την πλήρη κάλυψη της υποδοχής. Αποφύγετε όμως το να τρέξει μεταξύ των υποδοχών γιατί αυτό ενδέχεται να προκαλέσει λανθασμένα αποτελέσματα.</p>
3.	<p><b>Πλύση:</b> Μετά την επώαση αφαιρέστε τα πλακίδια από το δοχείο επώασης και ξεπλύνετε σύντομα με πλυστικό ρυθμιστικό διάλυμα χρησιμοποιώντας πλαστικό δοχείο πίεσης. Μην κατευθύνετε την ροή απευθείας στα βυθίσματα.</p> <p><b>ΣΗΜ:</b> Για να αποφύγετε επιμόλυνση γείρετε το πλακίδιο πρώτα προς την μια σειρά βοθρίων και, προσεκτικά κατευθύνετε την ροή του πλυστικού κατά μήκος της μέσης του πλακιδίου, αφήνοντας το υγρό να τρέξει έξω από την κατώτερη άκρη του πλακιδίου. Στη συνέχεια γυρίστε το πλακίδιο προς την άλλη σειρά βοθρίων, και επαναλάβετε την διαδικασία, επιστρέποντας στο πλυστικό διάλυμα να τρέξει από την νέα άκρη του πλακιδίου. Βυθίστε τα πλακίδια 10 λεπτά σε πλυστικό διάλυμα μέσα σε ειδικό δοχείο χρώσης. Αποφύγετε την άμεση επαφή σκληρών επιφανειών με το υπόστρωμα. Για άριστα αποτελέσματα αλλάξτε το διάλυμα μια φορά μετά από 5 λεπτά.</p> <p>Αφαιρέστε τα πλακίδια από το δοχείο και προσεκτικά αφαιρέστε το πλεονάζον υγρό.</p> <p><b>ΣΗΜΕΙΩΣΗ:</b> Είναι σημαντικό τα βυθίσματα του πλακιδίου να μην στεγνώσουν κατά την διαδικασία γιατί αυτό μπορεί να βλάψει το υπόστρωμα. Παρακαλούμε μην στεγνώνετε ή αφήνετε το πλακίδιο να μείνει για περισσότερο από μερικά δευτερόλεπτα χωρίς την προσθήκη του φθορίζοντος αντι σώματος.</p>
4.	<p><b>Δεύτερη επώαση:</b> Μετά από την πλύση τοποθετείστε την αντικειμενοφόρο πλάκα αμέσως στον υγρό θάλαμο και επικαλύψτε κάθε πεδίο δοκιμασίας με επαρκής ποσότητα της έτοιμης προς χρήση σύζευξης. Η οποία είναι σημασμένη με FITC, έτσι ώστε το πεδίο δοκιμασίας να είναι πλήρως καλυμμένο.</p> <p>Επώαστε τα πλακίδια <math>30 \pm 10</math> λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και στο σκοτάδι.</p>
5.	<p><b>Πλύση:</b> Μετά την επώαση αφαιρέστε τα πλακίδια από το δοχείο επώασης και ξεπλύνετε σύντομα με πλυστικό ρυθμιστικό διάλυμα χρησιμοποιώντας πλαστικό δοχείο πίεσης. Μην κατευθύνετε την ροή απ' ευθείας στα βυθίσματα. Πλύνετε τα πλακίδια για 10 λεπτά σε ειδικό δοχείο χρώσης. Για άριστα αποτελέσματα , αλλάξτε το πλυστικό διάλυμα μια φορά μετά από 5 λεπτά.</p>
6.	<p><b>*Προαιρετική αντιχρώση:</b> Αραιώστε την αντιχρώση (Evans Blue) 1:3000 σε ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης και αναμείξτε καλά. Κλίνετε την αντιχρώση στο τρυβλίο χρώσης και επώαστε τις αντικειμενοφόρους σε αυτό. Για τις λεπτομέρειες του χρόνου</p>



	επώασης, ανατρέξτε στην ενότητα <b>Διαδικασία κιτ</b> παραπάνω σύμφωνα με τα στοιχεία αναφοράς του προϊόντος που χρησιμοποιείτε. Αφαιρέστε τις αντικειμενοφόρους μετά από το χρόνο επώασης και εκπλύνετε σύντομα με ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης. Απομακρύνετε προσεκτικά το υπολειπόμενο πλεόνασμα σε ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης. Μη στεγνώνετε την αντικειμενοφόρο με οποιοδήποτε τρόπο.
7.	<b>Μονιμοποίηση:</b> Προσθέστε έναν κατάλληλο όγκο μέσου μονιμοποίησης κατά μήκος της μέσης γραμμής κάθε αντικειμενοφόρου. Τοποθετήστε προσεκτικά την καλυπτρίδα στη θέση της, αποφεύγοντας τις φυσαλίδες αέρα.
8.	<b>Μικροσκοπισμός:</b> Προβείτε στην ανάγνωση της(ων) αντικειμενοφόρου(ων) με μικροσκόπιο αμέσως σε ολική μεγέθυνση 400 - 800 x με μικροσκόπιο φθορισμού (φίλτρο διέγερσης 490 nm, φίλτρο αποκοπής 510 nm).

### c. Ροή εργασιών





## 12. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ

ΣΦΑΛΜΑ	ΠΙΘΑΝΕΣ ΑΙΤΙΕΣ	ΛΥΣΗ
Χαμηλή πυκνότητα κυττάρων	Κυτταρική λύση μετά από παρατεταμένη επαφή με απιονισμένο νερό. Εκτίναξη ρυθμιστικού διαλύματος απευθείας πάνω στο υπόστρωμα στην υποδοχή.	Ακολουθήστε τη διαδικασία πλύσης
	Προσβολή του ποστρώματος από πρωτεολυτικά ένζυμα	Αδρανοποιείστε τον ορό
Ανομοιογενής φθορισμός	Αποξήρανση ορού στην υποδοχή, ισχυρότερος φθορισμός στην άκρη	Επωάζετε πάντοτε σε υγρό περιβάλλον.
	Ο ορός δεν καλύπτει την υποδοχή εξέτασης	Εφαρμόζετε κατάλληλο όγκο υλικού εξέτασης
	Διασταυρούμενη αντίδραση μεταξύ των υποδοχών	Αποφύγετε το να τρέξει υλικό μεταξύ των υποδοχών στην πρώτη επώαση.
	Η σημείωση της αντικειμενοφόρου με κηρομπογιά προκαλεί μια μεμβράνη στην αντικειμενοφόρο	Χρησιμοποιήστε ένα μολύβι
	Λανθασμένη ρύθμιση μικροσκοπίου	Ελέγξτε τη ρύθμιση του μικροσκοπίου Ελέγξτε την αναμενόμενη διάρκεια ζωής της λάμπας UV.
Διάχυτη εικόνα	Αντικειμενοφόρος που επώαστηκε στο ψυγείο χωρίς κάλυψη	Σφραγίστε την αντικειμενοφόρο με βερνίκι νυχιών ή κηρό παραφίνης.
	Το μικροσκόπιο I.F. έχει λερωθεί. Πιθανές αμυχές στο φακό	Καθαρίστε το μικροσκόπιο σύμφωνα με τις οδηγίες του
Μειωμένος ή καθόλου φθορισμός	Συζυγή και αντικειμενοφόροι που έχουν υποβληθεί σε απόψυξη και εκ νέου κατάψυξη Αραιωμένοι μάρτυρες	Συζυγές και αντικειμενοφόροι αποθηκευμένοι σε 2°C - 8°C / 35 - 46°F.
	Βακτηριακή μόλυνση των ορών ή του συζυγούς	Ελέγξτε τις οδηγίες, χρησιμοποιήστε έτοιμους για χρήση μάρτυρες κιτ.
	Δεν έχει γίνει ρύθμιση του μικροσκοπίου. Πολύ χαμηλή τιμή pH του ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης (τιμή pH 7,4 ± 0,2)	Ελέγξτε τις συνθήκες
	Έκθεση στο φως του συζυγούς με FITC	Φυλάσσετε το συζυγές προστατευμένο από το φως
Φθορισμός υποβάθρου	-Έχει γίνει λανθασμένη πλύση -Η αντικειμενοφόρος έχει αποξηρανθεί  -Λιπαιμικοί, αιμολυμένοι οροί  -Σφάλμα μικροσκοπίου	-Ελέγξτε τις οδηγίες πλύσης -Μην αφήνετε τις αντικειμενοφόρους να στεγνώσουν. -Χρησιμοποιείτε μόνο πρόσφατα συλλεγμένους ορούς. -Ελέγξτε την ορθότητα του φίλτρου / αντικειμένου.



	- 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 ° Bestellnummer ° 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 ° Conserver à 2-8°C ° Lagerung bei 2-8°C ° Conservar entre 2-8°C	° Store at 2-8°C (35-46°F) ° Conservar a 2-8°C ° Φυλάσσεται στους 2-8°C
	° 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
	° Tampone di lavaggio ° Tampon de Lavage ° Waschpuffer ° Solución de lavado	° Wash Buffer ° Solução de lavagem ° Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	° Tampone di campione ° Tampon de Echantillons ° Probenpuffer ° Solución de Muestras	° Sample Buffer ° Solução de Muestras ° Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	° XX determinazioni ° XX tests ° XX Bestimmungen ° XX Testes	° XX tests ° XX pruebas ° XX προσδιορισμοί