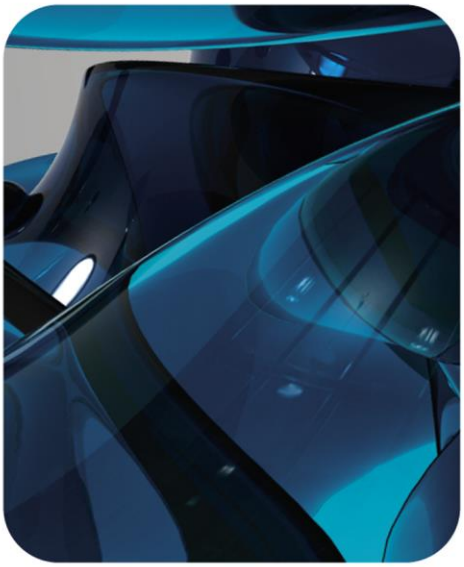
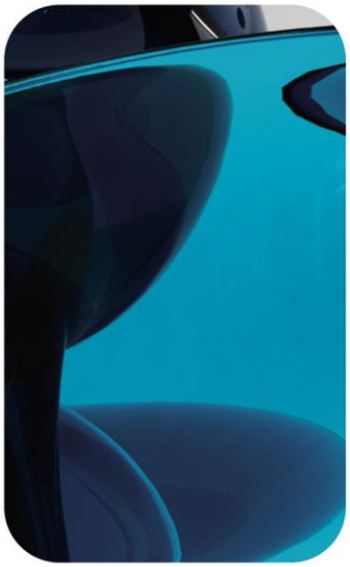
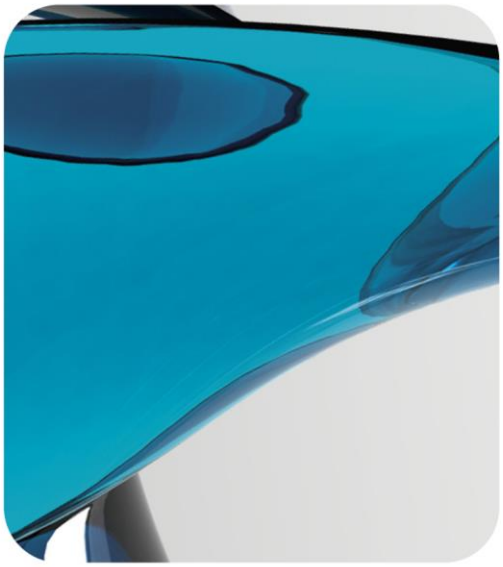
AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

AESKUSLIDES®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUCTION MANUAL

GREEK

DIN EN ISO 13485

AESKUSLIDES®
THE IFA PRODUCT LINE



Οδηγίες χρήσης

ANCA

Αναφ. προτύπου	Περιγραφή	Δοκιμές
54.100	**ANCA Ethanol** (12 βοθρία)	120
54.101	**ANCA Formalin** (12 βοθρία)	120
54.050	**ANCA Ethanol** (6 βοθρία)	60
54.051	**ANCA Formalin** (6 βοθρία)	60

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

ANCA

Αναφ.	Περιγραφή	Δοκιμές	
54.100	**ANCA Ethanol** (12 βοθρία)	120	Συμπεριλαμβανομένων των κιτ αναφοράς επίδειξης και μεγάλου κιτ αναφοράς: **xxx.Demo**
54.101	**ANCA Formalin** (12 βοθρία)	120	
54.050	**ANCA Ethanol** (6 βοθρία)	60	
54.051	**ANCA Formalin** (6 βοθρία)	60	

1. ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Το ***AESKUSLIDES ANCA*** είναι μία δοκιμασία έμμεσου ανοσοφθορισμού για την ανίχνευση αντι-ουδετερόφιλων κυτταροπλασματικών αυτοαντισωμάτων (ANCA) σε ανθρώπινο ορό.

Η δοκιμασία είναι ένα μέσο για τη διαφορική διάγνωση των σχετιζόμενων με τα ANCA αγγειίτιδων (AAV), όπως της κοκκιωμάτωσης με πολυαγγειίτιδα (κοκκιωμάτωση Wegener)[1], της μικροσκοπικής πολυαγγειίτιδας και του συνδρόμου Churg-Strauss.

2. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ

Η συντομογραφία ANCA (αντι-ουδετερόφιλα κυτταροπλασματικά αυτοαντισώματα) περιγράφει μία ομάδα αντισωμάτων που δρουν κατά διαφόρων στοιχείων ουδετερόφιλων κοκκιοκυττάρων και μονοκυττάρων. Η μέχρι τώρα εδραιωμένη μέθοδος για την ανίχνευση των ANCA ήταν η δοκιμασία έμμεσου ανοσοφθορισμού σε μονιμοποιημένα με αιθανόλη ουδετερόφιλα. Διαπιστώθηκε ότι ορισμένα ANCA δημιουργούν ένα πρότυπο φθορισμού του κυτταροπλάσματος (χαρακτηριζόμενα ως εκ τούτου C-ANCA), ενώ άλλα δημιουργούν ένα περιπυρηνικό πρότυπο (τα P-ANCA) σε μονιμοποιημένα με αιθανόλη ουδετερόφιλα. Καθώς και τα δύο πρότυπα μπορούν να καλύπτουν πολλά αντιγόνα, ο ανοσοφθορισμός δεν αρκεί για μία ικανοποιητική διαφορική διάγνωση της αγγειίτιδας. Κατά συνέπεια, κάθε δοκιμασία ανοσοφθορισμού (IFT) θα πρέπει να επαληθεύεται με εξειδικευμένες δοκιμασίες ELISA[2,3].

Ορισμένα ANCA δημιουργούν ένα άτυπο πρότυπο φθορισμού (τα A-ANCA), το οποίο μπορεί να είναι τεχνικώς δύσκολο να διαφοροποιηθεί από ένα πρότυπο που δημιουργείται από αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA) σε μονιμοποιημένα με αιθανόλη ουδετερόφιλα. Προκειμένου να διευκολυνθεί η διαφοροποίησή τους χρησιμοποιούνται ουδετερόφιλα που μονιμοποιούνται με φορμαλίνη. Τα ANCA που δημιουργούν μία χρώση P-ANCA/A-ANCA σε μονιμοποιημένα με αιθανόλη ουδετερόφιλα εμφανίζουν ένα κυτταροπλασματικό πρότυπο όταν χρησιμοποιούνται ως υπόστρωμα μονιμοποιημένα με φορμαλίνη ουδετερόφιλα. Σε περίπτωση που η χρώση

[1] Falk RJ, Gross WL, Guillevin L, Hoffman GS, Jayne DR, Jennette JC et al. Granulomatosis with Polyangiitis (Wegener's): An alternative name for Wegener's Granulomatosis. Arthritis Rheum 2011, 63: 863-864.
[2] Savige J, Gillis D, Benson E, Davies D, Esnault V, Falk RJ et al. International Consensus Statement on Testing and Reporting of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies (ANCA). Am J Clin Pathol 1999, 111: 507-513.
[3] Savige J, Dimech W, Fritzler M, Goeken J, Hagen EC, Jennette JC et al. Addendum to the International Consensus Statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies. Quality control guidelines, comments, and recommendations for testing in other autoimmune diseases. Am J Clin Pathol 2003, 120: 312-318.

αποβαίνει αρνητική θα πρέπει να διεξάγεται μία ανάλυση ANA με κύτταρα Hep2.[4]

Η μυελοϋπεροξειδάση (MPO) έχει ταυτοποιηθεί ως το κύριο αντιγόνο P-ANCA (MPO-ANCA). Ωστόσο, άλλα κυτταρικά στοιχεία, όπως η λακτοφερίνη, η καθεψίνη G, η λυσοζύμη και η ελαστάση, προκαλούν επίσης μία περιπυρηνική χρώση και συνεπώς περιλαμβάνονται στην ομάδα των P-ANCA. Ωστόσο, δεν συσχετίζονται ειδικά με τις AAV και μπορεί να διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στη διαφορική διάγνωση άλλων παθήσεων εκτός των αγγειίτιδων.[5]

Αντίθετα, η πρωτεϊνάση 3 είναι το κύριο αντιγόνο στόχος των C-ANCA (PR3-ANCA).[6] Ένα άλλο αντιγόνο, το οποίο μπορεί να παράγει ένα C-ANCA είναι η πρωτεΐνη BPI (αυξάνουσα τη βακτηριοκτόνο δράση/διαπερατότητα πρωτεΐνη).[7]

Τα ANCA ανιχνεύονται συχνά σε ασθενείς με μικροσκοπική πολυαγγειίτιδα (60% MPO-ANCA, 30% PR3-ANCA) και σε ασθενείς με σύνδρομο Churg-Strauss (30% MPO-ANCA, 30% PR3-ANCA).[8] Τα αυτοαντισώματα κατά των αντιγόνων PR3 αποτελούν ειδικό ορολογικό δείκτη για την κοκκιωμάτωση με πολυαγγειίτιδα (Wegener). Σε αυτήν την περίπτωση, το 50% (εντοπισμένη νόσος) έως 95% (γενικευμένη νόσος) εμφανίζουν PR3-ANCA.[9]

Τα αντισώματα κατά άλλων αντιγόνων που σχετίζονται με τα ANCA, όπως της λακτοφερίνης, της καθεψίνης G, της ελαστάσης και της BPI, σχετίζονται με πληθώρα ασθενειών. Ωστόσο, η σαφής κλινική συνάφεια εξακολουθεί να διερευνάται. Στην περίπτωση των αντισωμάτων αντι-ελαστάσης έχει αποδειχθεί μία συσχέτιση με τις προκαλούμενες από την κοκαΐνη καταστροφικές αλλοιώσεις μέσης γραμμής (CIMDL).[10]

Χαρακτηρισμός αντιγόνων: ανθρώπινα ουδετερόφιλα (κοκκιοκύταρα) μονιμοποιημένα με αιθανόλη ή φορμαλίνη

Διασταυρούμενη αντιδραστικότητα: Όπως περιγράφεται στην ενότητα της κλινικής εφαρμογής, η παρουσία των ANA μπορεί να δώσει πρότυπα φθορισμού, τα οποία μπορούν να αποδοθούν εσφαλμένα σε P-ANCA/A-ANCA. Αλλιώς δεν παρατηρείται καμία διασταυρούμενη αντιδραστικότητα.

Η ανίχνευση των αντισωμάτων βασίζεται στην αρχή της δοκιμασίας έμμεσου ανοσοφθορισμού (IIFA). Γυάλινες αντικειμενοφόρες πλάκες μικροσκοπίου επιστρώνονται με τμήματα ιστού ή κύτταρα (κύτταρα HEp-2 (ANA), κοκκιοκύτταρα (ANCA) ή *Crithidia luciliae* (nDNA)). Εάν ο ορός του ασθενούς περιέχει ειδικά αντισώματα, αυτά δεσμεύονται κατά την πρώτη επώαση. Μετά την αφαίρεση το αδέσμευτου υλικού σε στάδια πλύσης, τα δεσμευμένα αντισώματα

[4] Csernok E, Holle JU. Twenty-eight years with antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA): how to test for ANCA – evidence-based immunology? Autoimmun Highlights 2010, 1: 39-43.
[5] Wiik A, Stummann L, Kjeldsen L, Borregaard N, Ullman S, Jacobsen S et al. The diversity of perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies (pANCA) antigens. Clin Exp Immunol 1995, 101 Suppl 1: 15-17.
[6] Gross WL, Csernok E, Helmchen U. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies, autoantigens, and systemic vasculitis. APMIS 1995, 103: 81-97.
[7] Zhao MH, Jones SJ, Lockwood CM. Bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) is an important antigen for anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) in vasculitis. Clin Exp Immunol 1995, 99: 49-56.
[8] Bosch X, Guilabert A, Font J. Antineutrophil cytoplasmic antibodies. Bosch X, Guilabert A, Font J. Antineutrophil cytoplasmic antibodies. 404-418.
[9] Holle JU, Csernok E, Gross WL. Wegener Granulomatosis. 2008, In: Diagnostic Criteria in autoimmune Diseases, Shoenfeld Y, Cervera R, and Gershwin ME, eds. Humana Press, pp. 99-102.
[10] Wiesner O, Russell KA, Lee AS, Jenne DE, Trimarchi M, Gregorini G et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies reacting with human neutrophil elastase as a diagnostic marker for cocaine-induced midline destructive lesions but not autoimmune vasculitis. Arthritis Rheum 2004, 50: 2954-2965.

ανιχνεύονται με συζευγμένες με φθοριεσκίνη αντι-ανθρώπινες ανοσοσφαιρίνες κατά τη δεύτερη επώαση. Μία ειδική πράσινη φθορίζουσα χρώση του συμπλόκου αντιγόνου-αντισώματος μπορεί να προσδιορισθεί με μικροσκόπιο φθορισμού.

3. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΚΙΤ

Ανατρέξτε στη διαδικασία δοκιμασίας που αναφέρεται κοινό εγχειρίδιο αναφοράς, ενότητα 11, για αναλυτικές οδηγίες. Τα ακόλουθα αναλυτικά στοιχεία πρέπει να χρησιμοποιούνται για τα κιτ ANCA:

- Χρόνος χρώσης αντίθεσης: 30 έως 90 δευτερόλεπτα
- Συνιστώμενος τίτλος ανάλυσης: 1:20

4. ΕΡΜΗΝΕΙΑ

Τα αντι-ουδετερόφιλα κυτταροπλασματικά αντισώματα (ANCA) είναι μείζονος κλινικής σημασίας για την αξιολόγηση των αγγειακών διαταραχών του ασθενούς.

Ο κατάλληλος τελικός τίτλος είναι εκείνος, με τον οποίο ο ορός του ασθενούς εμφανίζει απλό θετικό φθορισμό. Ο ασθενής φθορισμός με τίτλους μεταξύ 1:20 και 1:80 ή η ασάφεια όσον αφορά στα κλινικά αποτελέσματα θα πρέπει να ελέγχονται μέσω μάρτυρα παρακολούθησης. Στην περίπτωση αυτή, τα δείγματα θα πρέπει να συλλέγονται κατά προσέγγιση ανά 3 εβδομάδες και να ελέγχονται με αντίστοιχο τρόπο.

1:20	25 µL ορού	+	475 µL ρυθμιστικού διαλύματος δείγματος
1:40	20 µL ορού	+	780 µL ρυθμιστικού διαλύματος δείγματος (1:2 της αραίωσης «1:20» αντίστοιχα)
1:80	10 µL ορού	+	790 µL ρυθμιστικού διαλύματος δείγματος (1:2 της αραίωσης «1:40» αντίστοιχα)
1:160	10 µL ορού	+	1590 µL ρυθμιστικού διαλύματος δείγματος (1:2 της αραίωσης «1:80» αντίστοιχα)

κ.ο.κ.

Το κλασικό πρότυπο C-ANCA που εμφανίζει κοκκώδη, ομοιογενή κυτταροπλασματική χρώση του κυτταροπλάσματος με ελάχιστη χρώση της περιοχής του πυρήνα.

Πρότυπο P-ANCA που εμφανίζει σαφώς οριοθετημένη περιπυρηνική χρώση (μονιμοποιημένα με αιθανόλη ουδετερόφιλα) ή κυτταροπλασματικό πρότυπο C-ANCA (μονιμοποιημένα με φορμαλίνη ουδετερόφιλα).

5. ΕΙΔΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

254 ψυγμένα δείγματα ελέγχθηκαν με το AESKUSLIDE ANCA Ethanol και το AESKUSLIDES ANCA Formalin και υποβλήθηκαν σε σύγκριση με αντιδραστήρια άλλης εταιρείας. Τα δείγματα είχαν φυλαχθεί για αρκετά έτη και αντιπροσώπευαν ασθενείς που είχαν αξιολογηθεί για αγγειίτιδα. Η σύγκριση των δύο κιτ είχε ως στόχο να καταδείξει τη συγκρισιμότητα μεταξύ δύο ανεξάρτητων κατασκευαστών συστημάτων ANCA, καθώς και τη συνέπεια των σχηματομορφών. Τα κλινικά δείγματα αντιπροσώπευαν ένα πλήρες φάσμα αυτοάνοσων νοσημάτων.

5.1 Αποτελέσματα:

ANCA Ethanol	Ανάλυση επιβεβαίωσης			
AESKUSLIDES	**c**	**p**	**αρν.**	**Σύνολο**
c	93		2	95
p		37	2	39
αρν.	2		118	120
Σύνολο	**95**	**37**	**122**	**254**

Η συμφωνία θετικών αποτελεσμάτων είναι 98,5% ((93+37 / 132))
Η συμφωνία αρνητικών αποτελεσμάτων είναι 96,7% (118/122)
Η συνολική συμφωνία είναι 97,6% ((130+118)/254)

ANCA Formalin	Ανάλυση επιβεβαίωσης		
AESKUSLIDES	**c**	**αρν.**	**Σύνολο**
c	130	6	136
αρν.		118	118
Σύνολο	**130**	**124**	**254**

Η συμφωνία θετικών αποτελεσμάτων είναι 100% (130 / 130)
Η συμφωνία αρνητικών αποτελεσμάτων είναι 95,1% (118/124)
Η συνολική συμφωνία είναι 97,6% ((130+118)/254)

5.2 Αναπαραγωγιμότητα και ακρίβεια

Ελέγχθηκαν τρεις διαφορετικές ΠΑΡΤΙΔΕΣ AESKUSLIDES για ANCA Ethanol και ANCA Formalin η καθεμία με 10 δείγματα ορού (4 θετικά σε MPO και PR3 και 2 αρνητικά), τα οποία καλύπτουν το πλήρες σύνολο των σχηματομορφών. Αυτά τα δείγματα αραιώθηκαν σε αναλογία από 1:40 έως και 1:5120 και κάθε διάλυμα αναλύθηκε από δύο ανεξάρτητες συσκευές ανάγνωσης και στις τρεις ΠΑΡΤΙΔΕΣ. Τα κριτήρια αποδοχής ήταν απόκλιση +/- 1 από την ένταση φθορισμού. Τα κριτήρια αποδοχής καλύφθηκαν για όλα τα δείγματα, όλα τα διαλύματα, όλες τις ΠΑΡΤΙΔΕΣ και όλες τις ανεξάρτητες συσκευές ανάγνωσης.

Αναλυτικότερες πληροφορίες διατίθενται κατόπιν αίτησης.

6. ΦΥΛΛΟ ΕΡΜΗΝΕΙΑΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

ANCA

Ημερομηνία:	Παρτίδα:	Μονιμοποίηση ethanol: ☐ formalin: ☐
Αρ. αντικειμενοφόρου:	Χειριστής:	

Αριθ. βοθρίου	**Αναγνωριστικό**	**Συντελεστής αραίωσης**	**F.I.**	**πυρηνόπλασμα**	**κυτταρόπλασμα**	**αυτοαντισώματα**	**παρατηρήσεις**
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							

7. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΤΥΠΙΚΟΥ ΚΙΤ

7.1 ΤΥΠΙΚΑ ΚΙΤ

		ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟΦΟΡΟΙ (10x σε κάθε κιτ)			ΣΥΖΕΥΓΜΑ (1x)			ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ (1x 0,5 ml)	
Κωδ. κιτ	**Περιγραφή κιτ**	**Κωδ.**	**Βοθρία**	**Επίστρωση με**	**Βοθρία**	**Όγκος**	**Επίστρωση με**	**Κωδ.**	**Βοθρία**
54.100	ANCA Ethanol (12 βοθρία)	s54.100	12	ανθρώπινα ουδετερόφιλα (μονιμοποίηση με αιθανόλη)	C54.100	4 ml	**IgG** Μπλε πώμα: διάλυμα ελαφρώς μπλε χρώματος. Περιέχει: BSA, Tween, Φλουορεσκεΐνη (FITC)-επισημασμένο αντι-ανθρώπινο αντίσωμα	PC54.100	Μάρτυρας C-ANCA προτύπου ANCA Κόκκινο πώμα: άχρωμο διάλυμα. Περιέχει: ανθρώπινο ορό (αραιωμένο), αζίδιο του νατρίου <0,1% (συντηρητικό)
								PC54.101	Μάρτυρας P-ANCA προτύπου ANCA Κόκκινο πώμα: άχρωμο διάλυμα. Περιέχει: ανθρώπινο ορό (αραιωμένο), αζίδιο του νατρίου <0,1% (συντηρητικό)
54.101	ANCA Ethanol (12 βοθρία)	s54.101	12	ανθρώπινα ουδετερόφιλα (μονιμοποίηση με φορμαλίνη)	C54.101	4 ml	**IgG** Μπλε πώμα: διάλυμα ελαφρώς μπλε χρώματος. Περιέχει: BSA, Tween, Φλουορεσκεΐνη (FITC)-επισημασμένο αντι-ανθρώπινο αντίσωμα	PC54.100	Μάρτυρας C-ANCA προτύπου ANCA Κόκκινο πώμα: άχρωμο διάλυμα. Περιέχει: ανθρώπινο ορό (αραιωμένο), αζίδιο του νατρίου <0,1% (συντηρητικό)
								PC54.101	Μάρτυρας P-ANCA προτύπου ANCA Κόκκινο πώμα: άχρωμο διάλυμα. Περιέχει: ανθρώπινο ορό (αραιωμένο), αζίδιο του νατρίου <0,1% (συντηρητικό)
54.050	ANCA Ethanol (6 βοθρία)	s54.050	6	ανθρώπινα ουδετερόφιλα (μονιμοποίηση με αιθανόλη)	C54.050	2 ml	**IgG** Μπλε πώμα: διάλυμα ελαφρώς μπλε χρώματος. Περιέχει: BSA, Tween, Φλουορεσκεΐνη (FITC)-επισημασμένο αντι-ανθρώπινο αντίσωμα	PC54.100	Μάρτυρας C-ANCA προτύπου ANCA Κόκκινο πώμα: άχρωμο διάλυμα. Περιέχει: ανθρώπινο ορό (αραιωμένο), αζίδιο του νατρίου <0,1% (συντηρητικό)
								PC54.101	Μάρτυρας P-ANCA προτύπου ANCA Κόκκινο πώμα: άχρωμο διάλυμα. Περιέχει: ανθρώπινο ορό (αραιωμένο), αζίδιο του νατρίου <0,1% (συντηρητικό)
54.051	ANCA Ethanol (6 βοθρία)	s54.051	6	ανθρώπινα ουδετερόφιλα (μονιμοποίηση με φορμαλίνη)	C54.051	2 ml	**IgG** Μπλε πώμα: διάλυμα ελαφρώς μπλε χρώματος. Περιέχει: BSA, Tween, Φλουορεσκεΐνη (FITC)-επισημασμένο αντι-ανθρώπινο αντίσωμα	PC54.100	Μάρτυρας C-ANCA προτύπου ANCA Κόκκινο πώμα: άχρωμο διάλυμα. Περιέχει: ανθρώπινο ορό (αραιωμένο), αζίδιο του νατρίου <0,1% (συντηρητικό)
								PC54.101	Μάρτυρας P-ANCA προτύπου ANCA Κόκκινο πώμα: άχρωμο διάλυμα. Περιέχει: ανθρώπινο ορό (αραιωμένο), αζίδιο 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 8 ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΚΟΙΝΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ.

7.2 ΚΙΤ ΕΠΙΔΕΙΞΗΣ

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

8. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΚΟΙΝΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

a. Κοινά αντιδραστήρια

Αναφ.	αντιδραστήριο	Ποσότητα / Όγκος		Περιγραφή	Έτοιμο προς χρήση
NCANCA	Αρνητικός μάρτυρας	1x	0.5ml	Πράσινο καπάκι: άχρωμο διάλυμα. Συστατικά στοιχεία: Ανθρώπινος ορός (διαλυμένος), οξείδιο του νατρίου < 0,1% (συντηρητικό)	ΝΑΙ
*** EBIFA**	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
MMIFA	Μέσο μονιμοποίησης	1x	8ml	Εγκεκριμένο για χρήση με το HELMED® Λευκό καπάκι: άχρωμο διάλυμα Συστατικά στοιχεία: PBS, Γλυκερίνη.	ΝΑΙ
WBIFA	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
SBIFA	Ρυθμιστικό διάλυμα δείγματος	1x	70ml	Λευκό καπάκι: άχρωμο διάλυμα για την αραίωση 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 αραίωση 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.

9. Φύλαξη και διάρκεια ζωής

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 αντιδρστήρια 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 λήψης που αναγράφεται σε κάθε μέρος.**

10. Υποδείξεις και Προφυλάξεις χρήσης

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. 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.

11. Συλλογή, χειρισμός και φύλαξη των δειγμάτων

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 σφιχτά 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.

12. Διεξαγωγή της δοκιμασίας

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.

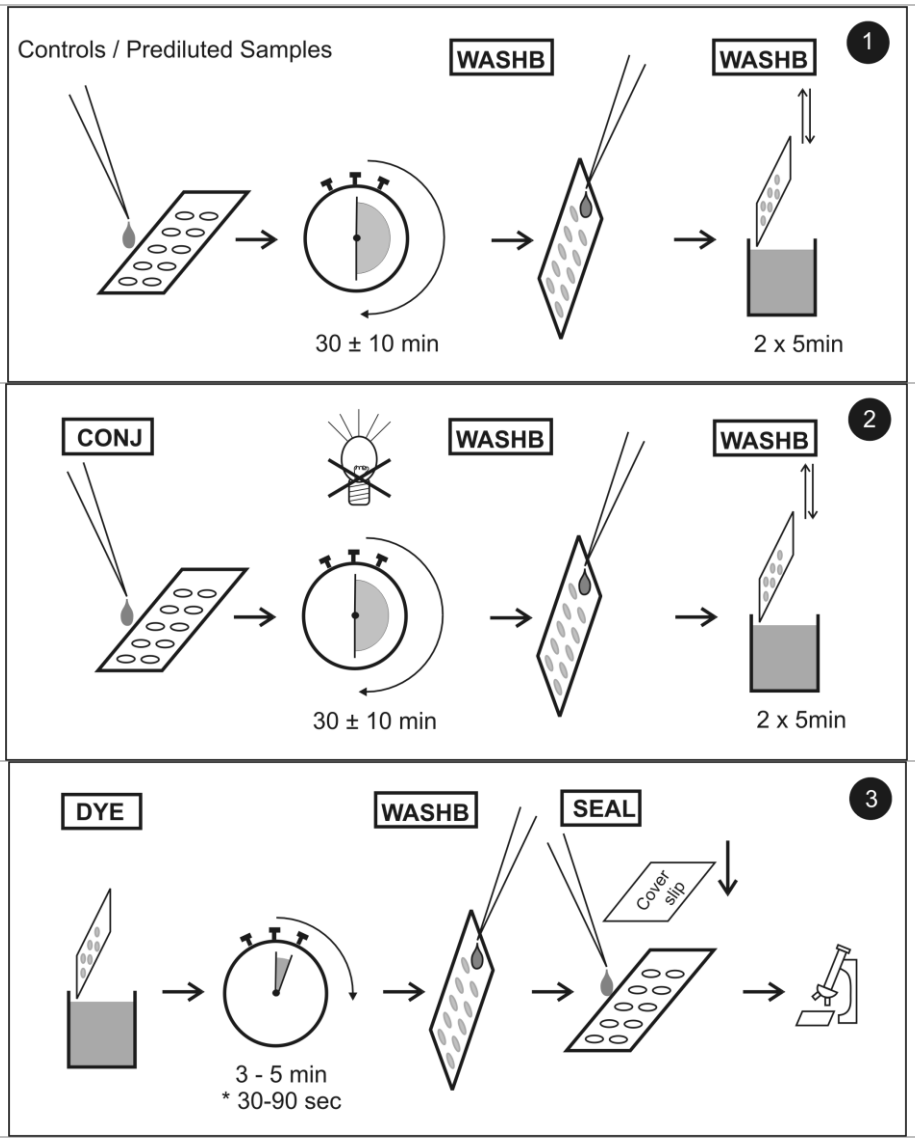
1. Προετοιμασία του Ρυθμιστικού ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης: Αραιώστε το συμπυκνωμένο ρυθμιστικό διάλυμα κατά 1:10 σε αποσταγμένο νερό.
2. Αραίωση δειγμάτων: Αραιώστε ορό ασθενούς (για τον τίτλο ελέγχου ανατρέξτε στην ενότητα ***Διαδικασία κιτ*** παραπάνω σύμφωνα με την αναφορά προϊόντος που χρησιμοποιείτε) 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.	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. Μην αφήνετε ποτέ τις αντικειμενοφόρους να στεγνώσουν.
2.	**Προετοιμασία του δίσκου θερμοκοιτίδα:** Τοποθετείστε μικρή ποσότητα απεσταγμένου η απιονισμένου νερού σε ένα δοχείο επώασης και τοποθετείστε τα πλακίδια στις ειδικές θέσεις υποστήριξης του δοχείου επώασης. Επωάστε τα πλακίδια 30 ± 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου στο υγρό δοχείο επώασης. Διατηρείστε σταθερούς χρόνους επώασης με το αντιδραστήριο σύζευξης (conjugate). **Πρώτη επώαση:** Μεταφέρετε με πιπέτα κατάλληλη ποσότητα από κάθε αραιωμένο ορό ασθενή στις κατάλληλες υποδοχές και αποφύγετε τηνεπαφή 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.
3.	**Πλύση**: 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. ΣΗΜ: 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 αλλάξετε το διάλυμα μια φορά μετά από 5 λεπτά. Αφαιρέστε τα πλακίδια από το δοχείο και προσεκτικά αφαιρέστε το πλεονάζον υγρό. ΣΗΜΕΙΩΣΗ: 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 αντισώματος.
4.	**Δεύτερη επώαση:** 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. Επωάστε τα πλακίδια 30 ± 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και στο σκοτάδι.
5.	**Πλύση:** 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.
6.	***Προαιρετική αντιχρώση**: Αραιώστε την αντιχρώση (Evans Blue) 1:3000 σε ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης και αναμείξτε καλά. Κλίνετε την αντιχρώση στο τρυβλίο χρώσης και επωάστε τις αντικειμενοφόρους σε αυτό. Για τις λεπτομέρειες του χρόνου

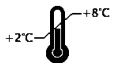
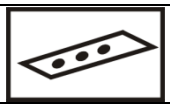
	επώασης, ανατρέξτε στην ενότητα **Διαδικασία κιτ** παραπάνω σύμφωνα με τα στοιχεία αναφοράς του προϊόντος που χρησιμοποιείτε.Αφαιρέστε τις αντικειμενοφόρους μετά από το χρόνο επώασης και εκπλύνετε σύντομα με ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης. Απομακρύνετε προσεκτικά το υπολειπόμενο πλεόνασμα σε ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης. Μη στεγνώνετε την αντικειμενοφόρο με οποιοδήποτε τρόπο.
7.	**Μονιμοποίηση**: 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.	**Μικροσκοπισμός**: 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



13. 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 επωάστηκε 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.

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	¨ Cataloge 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
	¨ Déclaracão 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 instrucões 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
	¨ Controlo positivo	
CONTROL −	¨ Controllo negativo	¨ Negative Control
	¨ Contrôle Négatif	¨ Control Negativo
	¨ Negativ Kontrolle	¨ Αρνητικός ορός ελέγχου
	¨ Controlo 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
	¨ Lâmina	
WASHB 10x	¨ Tampone di lavaggio	¨ Wash Buffer
	¨ Tampon de Lavage	¨ Solucão de lavagem
	¨ Waschpuffer	¨ Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	¨ Solución de lavado	
SB 1x	¨ Tampone di campione	¨ Sample Buffer
	¨ Tampon de Echantillons	¨ Solucão de Muestras
	¨ Probenpuffer	¨ Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	¨ Solución de Muestras	
	¨ XX determinazioni	¨ XX tests
	¨ XX tests	¨ XX pruebas
	¨ XX Bestimmungen	¨ XX προσδιορισμοί
	¨ XX Testes	